

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAULO CÉSAR FLÔRES JUNIOR

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANÁLISE DE DIVERGÊNCIA GENÉTICA
ENTRE CLONES DE ACÁCIA-NEGRA (*Acacia mearnsii* De Wildeman)**

CURITIBA

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAULO CÉSAR FLÔRES JUNIOR

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANÁLISE DE DIVERGÊNCIA GENÉTICA
ENTRE CLONES DE ACÁCIA-NEGRA (*Acacia mearnsii* De Wildeman)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Departamento de Ciências Florestais, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção de título de Mestre em Ciências Florestais

Orientador: Prof. Dr. Antonio Rioyei Higa
Coorientadores: Dra. Angela Cristina Ikeda; Prof. Dra. Luciana Duque Silva; Dr. Guilherme Schnell Schuhli

CURITIBA

2015

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Florestais e da Madeira - UFPR

Flôres Junior, Paulo César

Caracterização morfológica e análise de divergência genética entre clones de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) / Paulo César Flôres Junior. – Curitiba, 2015.

76 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Rioyei Higa

Coorientadores: Dra. Angela Cristina Ikeda; Prof. Dra. Luciana Duque Silva
Dr. Guilherme Schnell Schuhli

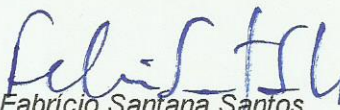
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal. Defesa: Curitiba, 14/08/2015.

Área de concentração: Silvicultura.

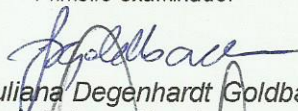
PARECER

Defesa nº. 1126

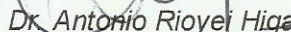
A banca examinadora, instituída pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, após arguir o(a) mestrando(a) *Paulo César Flôres Junior* em relação ao seu trabalho de dissertação intitulado "**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANÁLISE DE DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE CLONES DE ACÁCIA-NEGRA (*Acacia mearnsii* De Wild.)**", é de parecer favorável à APROVAÇÃO do(a) acadêmico(a), habilitando-o(a) ao título de *Mestre* em Engenharia Florestal, área de concentração em SILVICULTURA.



Dr. Fabricio Santana Santos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Primeiro examinador



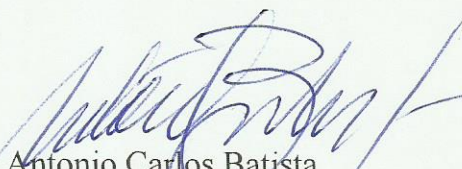
Dr. Juliana Degenhardt Goldbach
Embrapa Florestas
Segundo examinador



Dr. Antonio Rioyer Higa
Universidade Federal do Paraná
Orientador e presidente da banca examinadora



Curitiba, 14 de agosto de 2015.



Antonio Carlos Batista
Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal

*À minha amada princesa, Antônia,
À minha irmã, Andressa Vasconcelos Flôres
À minha mãe, Abigail Vasconcelos Flôres
À ele, meu herói, meu pai, Paulo César Flôres
Dedico!*

AGRADECIMENTOS

À minha família, sempre tão presente, sempre tão unida, sempre me apoiando. À “Tabeluda do Didi” por entender minha ausência nesse período. À minha irmã que sempre será um exemplo de ética profissional na Engenharia Florestal, Andressa Vasconcelos Flôres. Aos meus pais, Abigail Vasconcelos Flôres e Paulo Cesar Flôres, por sempre acreditarem nos meus sonhos e me acompanhar nessa jornada longe da nossa terra e de nossa história.

Ao professor Antonio Rioyei Higa, pela oportunidade, orientação, paciência, incentivo e confiança.

Aos meus coorientadores Professora Luciana Duques Silva e Dr. Guilherme Schnell Schuhli por toda paciência, pelas sugestões na execução do trabalho e colaborações.

À Dr. Angela Ikeda, pela coorientação em todas as etapas do mestrado. Obrigado por ter sido além de tudo, um grande apoio para os momentos de desespero, medo e alegria. Sempre tão solícita a entender minhas dificuldades e pontuar sempre os pontos positivos dessa caminhada com um sorriso no rosto. Houston, à você meu mais que obrigado.

À Dona Carmen Ceccon, pelo carinho, atenção, pelo cuidado comigo, por tudo... me faltam palavras.

À Vanessa Ishibashi, minha companheira de café, por sempre ser tão gentil, paciente, dedicada e amável. Obrigado pelo suporte desde o momento que cheguei na UFPR.

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e TANAGRO pelo apoio e incentivo no projeto. Em especial ao Dr. Fabrício Santos (SNPC), Marcos Behling, Herick Rodrigues e Eduardo Londero pela colaboração.

Aos meus colegas da pós-graduação, em especial Etienne e Sheilly, por acreditarem em mim mais do que eu, pelo ombro amigo, solução das dúvidas e pelos risos de desespero com os prazos.

Aos alunos integrantes do Laboratório de Genética e Melhoramento Florestal, por todo conhecimento, companheirismo, paciência e amizade.

Aos meus amigos do meu Rio Grande amado, que mesmo de longe torceram muito por esse trabalho.

Enfim, à todos que conheci nessa caminhada meu sincero muito obrigado.

*“Chega uma hora, um ponto em que você sente uma linha imaginária -
você está viajando por uma estrada, não sabe exatamente para onde
está indo, mas sabe que está longe demais para voltar.”*

(Quase verdade - Jennifer Kaufman e Karen Mack)

RESUMO

Cultivares são resultantes de extensas pesquisas e asseguram aos seus obtentores direitos e deveres. Para ser protegida, a cultivar deve atender alguns pré-requisitos, como, ser proveniente de melhoramento genético e apresentar distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade – DHE. Eles devem ser baseados em descritores mínimos bem como terem uma denominação própria e ser novidade perante os demais materiais vegetais utilizados. *Acacia mearnsii* De Wildeman, popularmente conhecida como acácia-negra, é uma espécie florestal nativa da Austrália e no Brasil ela é plantada no Estado do Rio Grande do Sul. A espécie tem sido melhorada geneticamente desde a década de 1980 e, nos últimos dez anos, a clonagem massal, via miniestaquia, de genótipos selecionados tem-se mostrado uma alternativa para aumento significativo da produtividade. Visto o extenso trabalho desenvolvido com a espécie, é possível proteger genótipos superiores de acordo com os requisitos da lei brasileira. A acácia-negra é uma espécie com ampla utilização, sua madeira tem um alto poder calorífico, de sua casca é extraído o tanino que tem diversificada utilização. Além disso, é uma espécie fixadora de nitrogênio, com baixo investimento de plantio e com ciclo curto de rotação. Este trabalho teve como objetivo propor descritores mínimos para proteção de cultivares de acácia-negra. Para descritores de sementes, foram avaliados o peso individual das sementes, o comprimento, a largura, a espessura e o tamanho do hilo de 50 sementes de nove clones de um pomar clonal. Utilizando o coeficiente de repetibilidade verificou-se que uma amostra de 22 sementes é adequada para obter coeficiente de determinação de 90%. Com isso, cinco descritores quantitativos de sementes foram definidos para espécie. Para a definição dos descritores mínimos com base na morfologia das plantas de acácia-negra, foram avaliadas 37 características qualitativas e quantitativas, em dois testes clonais localizados nos municípios de Cristal e Jaguarão, ambos no Estado do Rio Grande do Sul. Avaliaram-se nove indivíduos de cada clone e com dados de diâmetro foram calculados os coeficientes de repetibilidade, o que assegurou alta acurácia com coeficiente de determinação acima de 95%. Pelo método de agrupamento por distância Euclidiana observou-se que o diâmetro não demonstrou distinção entre clones e por essa razão foi descartado como um descritor. Pelo método hierárquico UPGMA e índice de Jaccard foi possível observar distinção morfológica entre clones. No total de 37, 20 características qualitativas de indivíduos adultos e sementes, e cinco características quantitativas de sementes demonstram-se eficazes na distinção entre clones. Com isso 25 características são recomendadas para comporem a lista de descritores mínimos.

Palavras-chave: clones; acácia-negra; descritores morfológicos mínimos, proteção de cultivar.

ABSTRACT

Varieties are the result of long lasting research and ensure to their obtainers legal rights as well as obligations. In order to become protected, a cultivar must fulfill a number of prerequisites, such as: being originated from genetic improvement programs and show distinctness, uniformity and stability (DHE in Portuguese). These prerequisites shall be based on primary descriptors as well as having a new denomination and the variety is deemed to be new regarding any other plant. *Acacia mearnsii* De Wildeman, popularly known as black wattle, is a native species from Australia. In Brazil, it is grown in Rio Grande do Sul, a state located in the South of the country. The species has been undergoing genetics improvement programs since the 1980's and in the last 10 years, mass cloning via mini cuttings from selected genotypes has proven to be a viable alternative for productivity gain. Due to the vast research work done with this species, it is possible to protect superior genotypes according to the Brazilian law requirements. Black wattle has a wide range of uses, its wood has high calorific value, and tannin is extracted from its bark for multiple purposes. Besides, black wattle is a nitrogen fixating species, with low planting costs and short rotation cycle. This study has as goal, to propose the list of descriptors allowing breeder's to protected varieties of black wattle. For the seeds descriptors, the individual seed weight, length, thickness, as well as the hilum size were measured. Fifty seeds from nine different clones from a clonal garden were used. By applying the repeatability coefficient, it was possible to establish that a sample comprising 22 seeds is enough to obtain a 90% determination coefficient. This way, five quantitative descriptors were established for the species. In order to determine the descriptors for black wattle, 37 qualitative and quantitative characteristics were evaluated using trees from in two clonal testing sites in the cities of Cristal and Jaguarão, both in Rio Grande do Sul. Each clone had nine subjects tested and with the diameter data, the repeatability coefficient was calculated, ensuring over 95 % of determination coefficient. Applying the Euclidean Distance Approach, the diameter was similar among clones, and thus was discarded as a descriptor. By based on the UPGMA hierarchical clustering approach and Jacard index, it was possible to establish morphological differentiation among clones. Overall, out of the 37 studied characters, 20 qualitative characters for adult subjects and seeds and five quantitative characters for seeds were proven effective for distinguishing the clones. Therefore, 25 characters are recommended to compose the descriptors list.

Key words: clones, black wattle, primary morphological descriptors, cultivar protection.

SUMÁRIO

RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVO GERAL	12
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 PROTEÇÃO DE CULTIVARES.....	14
2.1.1 Escopo da Proteção de Cultivares	14
2.1.2 Regulamentação brasileira para Proteção de Cultivares	15
2.1.3 Teste de Distingüibilidade, Homogeneidade e Estabilidade.....	17
2.1.4 Cultivares passíveis de proteção no Brasil.....	20
2.2 <i>Acacia mearnsii</i> De Wildeman	21
2.2.1 O gênero <i>Acacia</i> e a distribuição natural da <i>Acacia mearnsii</i> De Wild.....	21
2.2.2 Morfologia da acácia-negra.....	22
2.2.3 A biologia reprodutiva da <i>Acacia mearnsii</i> De Wild.....	23
2.2.4 Aspectos da acacicultura no Brasil	27
2.2.5 Características silviculturais	29
2.2.6 Propagação vegetativa de acácia-negra.....	31
REFERÊNCIAS.....	33
3 CAPÍTULO 1 - REPETIBILIDADE E DISSIMILARIDADE DE CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS DE SEMENTES DE ACÁCIA-NEGRA (<i>Acacia mearnsii</i> De Wild.)	41
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	42
3.1 INTRODUÇÃO	43
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
3.4 CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS.....	51
4 CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE CLONES DE ACÁCIA-NEGRA (<i>Acacia mearnsii</i> De Wild.) VISANDO PROPOSIÇÃO DE DESCRITORES MÍNIMOS PARA PROTEÇÃO DE CULTIVARES.....	53
RESUMO.....	53
ABSTRACT.....	54
4.1 INTRODUÇÃO	55

4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	56
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	59
4.4 CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICES	67

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a maior parte dos plantios florestais ainda é originada de sementes (seminal) e isso geralmente significa variabilidade genética e heterogeneidade no desenvolvimento das árvores no plantio. Esses aspectos realçam a dificuldade de se obter cultivares estáveis, homogêneas e distintas, tornando um grande desafio a proteção de cultivares de espécies florestais alógamas cuja reprodução seja seminal.

Nessas últimas décadas, o uso de mudas clonadas em larga escala por mini estaquia de espécies florestais trouxe uma nova oportunidade para a obtenção de ganhos genéticos, garantindo melhores mudas clonadas que apresentam homogeneidade e estabilidade do material genético. No entanto, a geração e seleção de clones é uma atividade que envolve grandes investimentos em pesquisas. Para que o desenvolvimento desse trabalho e o investimento realizado sejam reconhecidos se faz necessário atender a alguns padrões legais para que seja possível proteger a cultivar desenvolvida. Clone, de acordo com a Lei de Proteção de Cultivares, é definido como um grupo de indivíduos geneticamente idênticos, provenientes de propagação vegetativa de um ancestral comum, esse termo é amplamente utilizado erroneamente para designar o termo cultivar.

A proteção de cultivares está firmada principalmente na inovação de um produto vegetal para o produtor. Esse produto deve apresentar maior produtividade ou melhor qualidade quando comparado com as cultivares já usadas em plantios e com isso, despertar o interesse do produtor e do silvicultor, no caso das espécies florestais. Sob o ponto de vista econômico, o produtor de sementes ou mudas tem a opção de ampliar e expandir seus negócios garantindo assim o retorno financeiro necessário aos desenvolvedores das novas cultivares. Com isso, o governo consegue atrair investimentos ao setor florestal brasileiro, setor que já contribui de maneira significativa para o agronegócio. O setor privado aumenta os investimentos na pesquisa e a silvicultura nacional mantém a competitividade no cenário internacional como um dos grandes detentores de tecnologia (AVIANI, 2015) .

“Cultivar” é um termo técnico internacional, formado a partir da expressão do inglês *cultivated variety*, e indica uma variedade cultivada de planta obtida por meio de técnica de melhoramento. Cultivar é um grupo de indivíduos de qualquer gênero

ou espécie vegetal superior que seja claramente distinguível de outros por uma margem mínima de descritores e que possua denominação própria, homogeneidade e estabilidade quanto aos descritores em sucessivas gerações (BORÉM, 2013). Os descritores e características agronômicas que conferem identidade aos cultivares podem ser: ciclo, cor das sementes, caracteres morfológicos, reação a doenças, produção de grãos e padrões isoenzimáticos ou de ácidos nucleicos.

A espécie *Acacia mearnsii* ainda não possui descritores mínimos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para a proteção de cultivares. Por se apresentar como uma espécie importante na economia brasileira torna-se necessário estabelecer uma metodologia para sua proteção. Com isso, o estabelecimento de descritores mínimos é um fator importante a ser desenvolvido, pois viabiliza direitos aos obtentores e assegura ao produtor plantios homogêneos e estáveis.

Os programas de melhoramento genético da *A. mearnsii* no mundo encontram-se em diferentes etapas de desenvolvimento. O programa de melhoramento genético da espécie no Brasil busca aumentar a produtividade e a qualidade da madeira e casca (Higa e Resende, 1994). Sementes de quarta geração de melhoramento genético já são usadas em plantios comerciais. Com base em resultados preliminares das pesquisas desenvolvidas nesses últimos anos, é possível concluir que as florestas clonais aumentarão significativamente a produtividade das plantações. Já na África do Sul, Vietnã e China os esforços encontram-se com enfoque na produção de sementes de variedades triploides devido a espécie ser considerada de alto poder invasor de ecossistemas naturais (BECK-PAY, 2012; NGHIEM *et al.*, 2013).

1.1 OBJETIVO GERAL

Propor descritores morfológicos mínimos para proteção de cultivares de acácia-negra.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Determinar o número mínimo de sementes e partes vegetais a serem analisadas qualitativa e quantitativamente;

b) Estabelecer os descritores mínimos para sementes e indivíduos adultos de acácia-negra.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PROTEÇÃO DE CULTIVARES

2.1.1 Escopo da Proteção de Cultivares

Paralelamente aos acordos mundiais referentes ao comércio, por volta de 1950, diversos países europeus haviam iniciado a elaboração de uma lei de proteção *sui generis* de variedade vegetais. Esse movimento resultou na Conferência de Paris, 1961, com a criação da União Internacional para Proteção de Obtenções Vegetais (UPOV). Sediada na Organização Mundial de Propriedade Intelectual (OMPI) em Genebra, a UPOV foi estabelecida pela Convenção Internacional para Proteção de Obtenções Vegetais, que entrou em vigor em 1968 e foi revisada em 1972, 1978 e 1991. O ato de 1978 passou a vigorar em 8 de novembro de 1981 e o Ato de 1991, em 24 de abril de 1998 (VIANA, 2011).

O marco regulatório brasileiro referente à propriedade intelectual passou por transformações significativas a partir da segunda metade da década de 1990, logo após a assinatura do Acordo sobre Aspectos dos Direitos da Propriedade Intelectual – *Trade Related Aspects of Intellectual Property Rights* (TRIPS) na Organização Mundial do Comércio (OMC). As resoluções aprovadas nesse acordo entraram em vigor somente em 1996, com prazo de onze anos para serem implantadas (VIEIRA FILHO e VIEIRA, 2013). O acordo TRIPS dispõe sobre patentes e designa que os países membros da OMC podem optar pela proteção intelectual das variedades vegetais de três formas: patentário; *sui generis* ou a combinação dos dois modelos. Onde o sistema patentário refere-se aos direitos de patente aos obtentores e o sistema *sui generis* apresenta uma cultivar com características únicas e particulares.

Como o desenvolvimento de uma nova semente decorre em média de dez ou mais anos na pesquisa agropecuária, é relevante que a economia esteja preparada para regular a questão dos direitos de propriedade que possam remunerar o investimento realizado neste período de pesquisa (VIEIRA FILHO e VIEIRA, 2013). No Brasil, os direitos e as obrigações referentes à propriedade industrial são regulados pela Lei de Propriedade Industrial (LPI - Lei nº 9.279/1996) e a política de proteção

intelectual específica para a agricultura foi introduzida pela Lei de Proteção de Cultivares (LPC - Lei nº 9.456/1997).

A iniciativa de regulamentação sobre a proteção de cultivares, não teve como princípio único a execução dos compromissos junto à OMC, mas também atender à necessidade de modernização das estruturas brasileiras, prevista no Plano Diretor de Reforma do Aparelho do Estado, posto em prática em meados da década de 1990 (VIANA, 2011). A promulgação da LPC, cuja concepção a coloca na vanguarda, pode ser comparada com a maioria das legislações dos países desenvolvidos e em desenvolvimento (VIEIRA FILHO e VIEIRA, 2013). A LPC criou mecanismos institucionais e incentivos para que as empresas privadas desenvolvam novas cultivares. Anteriormente, a atividade de pesquisa nesta área era realizada quase exclusivamente pelo setor público, porém, com a LPC ampliaram-se as condições de apropriação dos ganhos por parte do setor privado que pesquisava novas variedades e sementes (VIEIRA e BUAINAIN, 2011).

Países ou organizações intergovernamentais, quando aderem a UPOV comprometem-se em adotar uma legislação no Ato em vigor. Quando um novo Ato entra em vigor é estabelecido um prazo para adesões. Vale ressaltar que os membros da organização não são obrigados a realizar a adesão do novo Ato proposto e podem permanecer signatários ao Ato anterior. Caso exista a vontade de se readequar ao novo Ato, deve-se assumir o compromisso de compatibilizar a nova versão com sua legislação.

Desse modo, pode-se dizer que os 69 Estados-membros da UPOV têm uma convivência harmônica para efeitos de implementação dos direitos de obtentores. AVIANI e MACHADO (2011), informam 46 membros (45 países e uma organização intergovernamental) vigora o Ato de 1991, enquanto 22 países adotam o Ato de 1978 e apenas a Bélgica permanece signatário do Ato de 1961/1972. O Brasil aderiu à Convenção dessa organização em abril de 1999, em sua versão modificada do Ato de 1978.

2.1.2 Regulamentação brasileira para Proteção de Cultivares

No Brasil, o órgão competente para a aplicação da lei e acatar os pedidos de proteção de cultivares é o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC. O

SNPC tem como missão garantir o livre exercício do direito de propriedade intelectual dos obtentores de novas combinações filogenéticas na forma de cultivares vegetais distintas, homogêneas e estáveis, zelando pelo interesse nacional no campo da proteção de cultivares (BRASIL, 2015b).

No Brasil, são passíveis de proteção: 1) a nova cultivar, conforme está definido no artigo 3º, inciso 5º, da Lei nº9.456/1997; 2) a cultivar essencialmente derivada; e 3) as cultivares não enquadráveis nestes dois grupos, mas que seus pedidos de proteção sejam apresentados num prazo máximo de 12 meses após a divulgação dos descritores da espécie, que o prazo máximo de comercialização, a contar da data da apresentação do pedido para trás, tenha sido de no máximo 10 anos. Essa última forma de proteção só irá produzir efeitos para cultivares essencialmente derivadas, ou seja, é uma proteção que vai ter seus efeitos, em termos de exercerem-se os direitos decorrentes, somente numa relação entre empresas de melhoramento (BRASIL, 2015b).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceu mecanismos para cadastrar e organizar informações detalhadas sobre as características das cultivares habilitadas para a produção e comercialização, em todo território nacional, instituindo o Registro Nacional de Cultivares (RNC) (CARVALHO *et al.*, 2009).

A proteção dos direitos intelectuais sobre uma cultivar é dada mediante certificado que é considerado um bem móvel e representa a única forma de proteção das espécies superiores de plantas (BRASIL, 2015b). Para se ter uma variedade protegida, são necessários os seguintes requisitos: 1) ser produto de melhoramento genético; 2) ser uma espécie passível de proteção e 3) não ter sido comercializada no exterior há mais de quatro anos ou há mais de seis anos, nos casos de videiras ou árvores. A espécie acácia-negra, está apta à proteção visto que se enquadra nos requisitos anteriores.

Para a proteção é necessária a comprovação das características da cultivar por meio de ensaios de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE), que só podem ser realizados para as espécies que possuem descritores morfológicos publicados no Diário Oficial pelo MAPA (AVANI *et al.*, 2008). A caracterização morfológica consiste em fornecer uma identidade para cada material através do uso de uma série de descritores botânicos facilmente visíveis e mensuráveis que permitem

estudar sua variabilidade genética (RAMOS e QUEIROZ, 1999). É uma análise simples, de baixo custo e prática de ser realizada em campo (BALLVE *et al.*, 1997). A proteção de cultivares pode influenciar mais diretamente nos custos de sementes de cultivares de polinização aberta, uma vez que os híbridos dispensam a proteção legal, devido às suas características de desenvolvimento. Os maiores beneficiados pela proteção de cultivares serão os que detêm maior capacidade para o desenvolvimento de novos produtos (CASTRO *et al.*, 2006).

Como vantagens do licenciamento para o titular do direito de proteção, pode-se salientar o seguinte: recebimento de remuneração pelo uso da cultivar ao longo do período de proteção; acesso a novos mercados; recebimento de remuneração pelo uso de cultivar essencialmente derivadas e utilização do Certificado de Proteção de Cultivar como garantia real. As desvantagens do licenciamento seriam: relação contínua entre o licenciador e licenciado; pagamento de taxas de manutenção da proteção anualmente; obrigações de controle da efetividade da proteção, ou seja, combate à pirataria e manutenção de uma estrutura de comercialização das licenças com mecanismos de controle (ROOIJEN, 2011).

De acordo com Aviani (2011), a proteção de uma cultivar pode ainda ser interrompida a qualquer momento pelo SNPC, *ex officio* ou a requerimento de qualquer pessoa com legítimo interesse, caso ocorram situações como: perda da homogeneidade ou estabilidade da cultivar; não pagamento da anuidade; ausência de um procurador devidamente qualificado e domiciliado no Brasil, quando se tratar de uma cultivar estrangeira; não apresentação da amostra viva; ou comprovação de que a cultivar tenha causado impacto desfavorável ao meio ambiente ou à saúde pública.

O SNPC é obrigado a anular a proteção de uma cultivar nos casos em que tenha concedido título à cultivar que, no momento do requerimento, não atendia aos requisitos de novidade e Distinguibilidade; contrariando direitos de terceiros; informações inverídicas sobre a cultivar ou sem que fossem observadas todas as providências legais para o processamento, a apreciação do pedido e a expedição do Certificado de Proteção (AVIANI, 2011).

2.1.3 Teste de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade

Atualmente, existem instruções para execução dos testes DHE aplicados a três espécies florestais. Sendo elas: Seringueira (BRASIL, 2010); Cacau (BRASIL, 2013a) Eucalipto (BRASIL, 2013b) e Pinus (BRASIL, 2015a).

Nova cultivar é a variedade de uma determinada planta que se torna diferente das demais, seja pela coloração, pelo porte ou pela resistência a doenças. A cultivar só terá caráter novo se houverem diferenças das outras variedades que se mantenham nas demais gerações. Deve-se ressaltar que não se trata de modificação genética manipulada e sim de uma combinação do próprio material genético da planta (BRASIL, 2015c).

De acordo com a legislação, cultivar é variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal, que seja resultante de trabalho de melhoramento e designada por uma denominação genérica (própria), apresentando as seguintes características (AVIANI, 2011):

- 1) Novidade: não ter sido oferecida à venda no país, há menos de 12 meses em relação ao pedido de proteção ou não haver sido comercializada no exterior há mais de 4 anos ou 6 no caso de árvores e videiras;
- 2) Distinguibilidade: a cultivar tem que se distinguir das demais variedades por uma característica importante ou por várias características, cuja combinação lhe dê a qualidade de “nova variedade”;
- 3) Homogeneidade: deve apresentar baixa variabilidade quando plantada, ou seja, plantas de uma mesma variedade devem apresentar características idênticas ou muito próximas; e
- 4) Estabilidade: as características que descrevem a cultivar devem ser as mesmas ao longo de sua reprodução.

Para a execução dos testes DHE são necessários alguns cuidados pelo órgão que desenvolve a cultivar para que os resultados sejam fidedignos. O material vegetal empregado deve ser o mais saudável possível. Na definição do número de ciclos de crescimento, alguns fatores devem ser levados em consideração, como: a influência do ambiente na expressão das características; a forma de propagação da espécie e sua biologia reprodutiva. Normalmente, definem-se dois ciclos de crescimento como parâmetros mínimos (MACHADO, 2011).

Os testes DHE devem ser conduzidos sob condições que assegurem um crescimento satisfatório das plantas. Normalmente são conduzidos em apenas uma

localidade para assim diminuir o efeito ambiental e com isso obterem-se dados mais concisos sobre a descrição, homogeneidade e estabilidade. As normativas para os testes DHE devem estabelecer um número mínimo de plantas no ensaio e de repetições. Vale ressaltar que, normalmente, é indicado um número mínimo de duas repetições. O número de plantas ou partes a serem avaliadas depende diretamente da forma de propagação, biologia reprodutiva e do ciclo da cultivar candidata. Em regra, cultivares propagadas vegetativamente exigem um menor número de plantas a serem avaliadas (MACHADO, 2011).

Para a realização dos testes, podem-se utilizar três métodos de análise: qualitativa, pseudoqualitativa e quantitativa. Segundo Machado (2011), características qualitativas são expressas em estágios descontínuos, autoexplicativas e independentemente significativas. Para as características pseudoqualitativas, a amplitude da expressão é ao menos parcialmente contínua, mas varia em mais de uma dimensão e não pode ser adequadamente descrita apenas pela definição de duas extremidades dessa amplitude linear. Por fim, características quantitativas são aquelas cuja expressão cobre toda a amplitude de variação, de um extremo ao outro. A expressão pode ser registrada por meio de uma escala linear unidimensional. A amplitude de expressão é dividida em diversos estágios, para fins de descrição e a divisão fornece, de forma prática, uma distribuição homogênea na escala.

Para manter uma sequência lógica na tabela de descritores morfológicos, deve-se seguir uma ordem botânica do desenvolvimento da planta: sementes; plântula; planta inteira; raiz; sistema radicular; caule; folhas; inflorescência; flor; fruto e grãos (MACHADO, 2011).

Segundo Santos e Pacheco (2011), o sistema de proteção de cultivares do Brasil permite que os melhoristas conduzam os testes de DHE e produzam um relatório final com os resultados, de acordo com os princípios contidos nas diretrizes de DHE da espécie avaliada. A decisão do SNPC sobre a proteção da cultivar baseia-se no relatório técnico fornecido pelo obtentor. Quando o SNPC julgar necessário, exames independentes e adicionais poderão ser solicitados para verificação da distinguibilidade, homogeneidade ou estabilidade, conforme o caso.

Uma alternativa que pode complementar os descritores morfológicos empregados na proteção de cultivares no Brasil e nos países membros da UPOV, é o uso dos marcadores moleculares. Os marcadores moleculares vêm sendo aplicados

na proteção de cultivares como uma ferramenta auxiliar, para comprovação da origem genética da cultivar, identificação de cultivares em casos de uso indevido e em atividades de fiscalização (AVIANI e SANTOS, 2011).

2.1.4 Cultivares passíveis de proteção no Brasil

O Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC disponibiliza descritores mínimos para realização de testes DHE para aproximadamente 144 gêneros/espécies. Os descritores mínimos norteiam a execução da avaliação das características morfológicas necessárias a serem observadas e em que parte vegetal as avaliações devem ser feitas para seguirem então, o padrão de cada normativa. Dentre as espécies que podem ser protegidas, estão:

Ornamentais: totalizando 44 protocolos de descritores mínimos (32,64%), para proteção de begônia, bromélia, copo-de-leite, cravo, crisântemo, dendróbio, fícus, hibisco, lírio, petúnia, rosa, violetas, dentre outras espécies.

Frutíferas: total de 33 protocolos de descritores mínimos (22,92%), para proteção de abacateiro, abacaxi, bananeira, cacau, laranjeira, macieira, mamoeiro, morango, maracujá, pereira, tangerina, videira, dentre outras.

Agrícolas: total de 24 protocolos de descritores mínimos (16,67%) para proteção de aveia, batata, café, centeio, feijão, girassol, mandioca, milho, soja, sorgo, tabaco, trigo, dentre outras.

Forrageiras: total de 23 protocolos de descritores mínimos (15,97%) para proteção de azevem, brachiaria, capim elefante, ervilhaca peluda, festuca, milheto, paspalum, setaria dentre outras.

Olerícolas: total de 14 protocolos de descritores mínimos (9,72%) para proteção de abóbora, alface, ervilha, melancia, melão, pimentão e pimentas, quiabo, tomate dentre outras.

Florestais: total de três protocolos de descritores mínimos (2,08%) para proteção de eucalipto, pinus e seringueira. Vale ressaltar que existem cultivares florestais protegidas apenas de eucalipto, visto que é a espécie mais trabalhada no Brasil e com isso seu uso é muito difundido. Descritores mínimos para o gênero pinus foram publicados em maio de 2015, com isso, ainda não existem cultivares protegidas visto ser uma normativa recente.

Observa-se então, que existe a necessidade de proteger material proveniente de programas de melhoramento genético florestal, visto que esse setor é expressivo perante o produto interno bruto (PIB), pois representa 5,5% da economia industrial brasileira (IBA, 2015).

2.2 *Acacia mearnsii* De Wildeman

2.2.1 O gênero *Acacia* e a distribuição natural da *Acacia mearnsii* De Wild.

O gênero *Acacia* compreende aproximadamente 1350 espécies com muitas espécies irmãs crípticas em distribuição pantropical (MASLIN, 2003). Na verdade, muitas espécies de *Acacia* são difíceis de diferenciar usando caracteres morfológicos (WARDILL *et al.*, 2005). Esse gênero pertence à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae e as espécies que os representam encontram-se ordenadas em três subgêneros: 1) subgênero *Acacia* (distribuição pantropical) que compreende em torno de 160 espécies; 2) subgênero *Aculeiferum*, com 203 espécies que apresentam distribuição pantropical; e 3) subgênero *Phyllodineae*, que abrange 960 espécies restritas à Austrália, incluindo *Acacia mearnsii* De Wildeman (MASLIN, 2002).

Espécies do gênero são componentes dominantes de vários ecossistemas na Austrália, particularmente em áreas áridas e semi-áridas (MASLIN, 2002). A grande diversidade de espécies de *Acacia* ocorre no sudoeste do continente Australiano e a região é conhecida como um *hotspot* global de diversidade (HNATIUK e MASLIN, 1988; HOPPER e GIOIA, 2004; MYERS *et al.* 2000).

Elas tem ampla variedade de utilização como lenha, madeira, fibra, medicinal, alimentício, artesanato, utilização doméstica, melhoria do ambiente, fertilização do solo, sombra, refúgio, alimentação do gado, planejamento ornamental, goma e taninos (WICKENS *et al.* 1995; MCDONALD *et al.* 2001; MIDGLEY e TURNBULL, 2003).

A ampla variação encontrada no gênero *Acacia*, especialmente nas espécies australianas, deve-se não somente às características morfológicas, mas também a grande diversidade de estratégias reprodutivas que essas espécies exibem (MASLIN, 2002). Apesar do grande potencial da utilização das espécies do gênero *Acacia*, algumas espécies têm sido particularmente utilizadas ao redor do mundo como fonte de madeira, tanino e celulose. A área de plantio dessas espécies abrange cerca de

dois milhões de hectares distribuídos em cerca de 70 países (MASLIN, 2003). Entre as principais espécies plantadas podemos citar *Acacia mangium*, *Acacia saligna* e *Acacia mearnsii*.

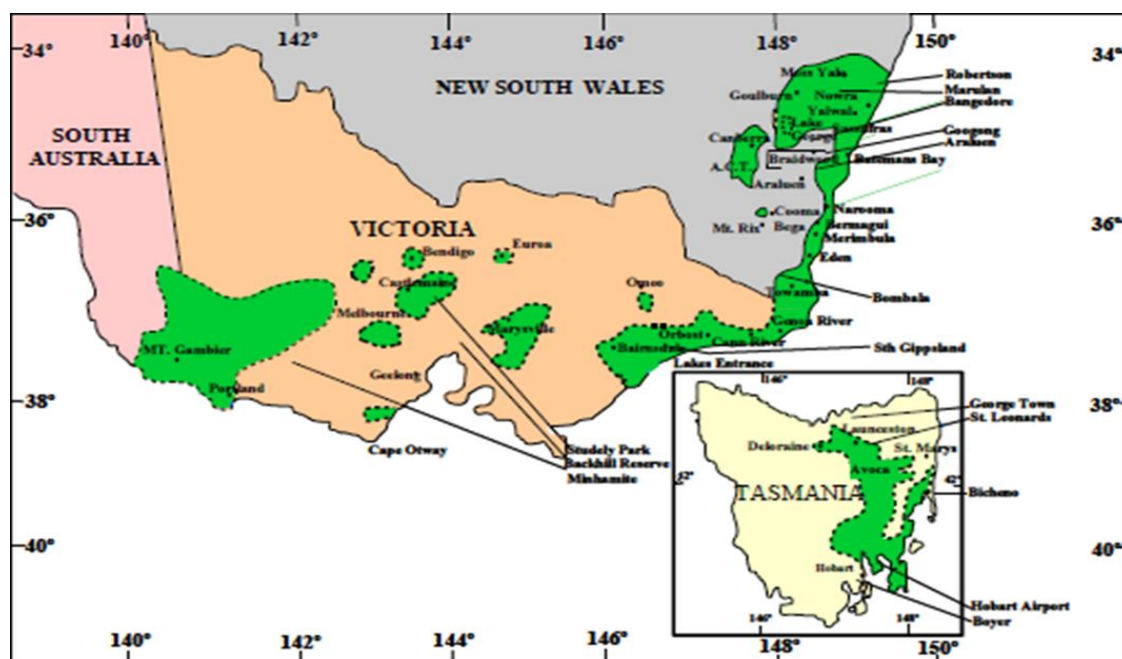


FIGURA 1 – ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DA ESPÉCIE *Acacia mearnsii* De Wildeman EM VERDE
 FONTE: Mora (2002)

2.2.2 Morfologia da acácia-negra

As informações botânicas apresentadas a seguir são descritas por BOLAND *et al.* (1984):

A acácia-negra, em seu habitat natural, é um arbusto grande ou pequena árvore. A altura varia de 6 a 10 metros, mas às vezes atinge 15 metros. Tem um caule principal que geralmente é reto e dominante em sua maior parte, quando em conjunto com outras árvores. A casca em árvores adultas é um tanto variável, geralmente, preta-amarronzada, dura e fissurada. Em árvores mais jovens e na parte superior das adultas a casca é mais fina, lisa e de coloração mais clara. A folhagem adulta é de cor verde escura (daí o nome de acácia-negra) com brotos novos suavemente amarelos. As folhas são bipinadas com 8 a 21 pares de pinas, cada um com 15 a 70 pares de folíolos. Estes medem 1,5 a 4,0 mm de comprimento por 0,5 a 0,7 mm de largura. Frequentemente, pubescentes, de cor verde escura. Glândulas presentes entre os pares de pinas na parte superior da folha. O comprimento total das folhas compostas varia entre 8 e 12 cm. Já a folhagem das mudas apresenta de 4 a 8 pares opostos de pinas, de coloração verde-escuro e cada pina é formada por 20 a 25 pares de folíolos oblongos. As inflorescências são panículas terminais ou axilares, mais ou menos do tamanho da folha, com 20 a 30 flores

hermafroditas, de cor amarelo-creme claro. A floração na Austrália ocorre entre outubro e dezembro, principalmente, em novembro.

Os frutos são legumes mais ou menos retos, finamente pilosos, comprimidos entre as sementes. Medem entre 5 a 15 cm de comprimento por 4 a 8 mm de largura e amadurecem de 12 a 14 meses depois da floração. Cada legume contém entre 1 e 14 sementes de cor negra, ovóide, de 3 a 5 mm de comprimento por 2 a 3,5 mm de largura, que se caracterizam por apresentar um arilo terminal curto de cor creme. A madeira da *A. mearnsii* apresenta alborno muito claro. O cerne possui coloração marrom claro com marcas avermelhadas, muito duro e resistente. Textura boa, mas comumente com grã reversa ou entrelaçada. Durabilidade baixa a moderada. A densidade básica é de aproximadamente 800 kg.m⁻³.

2.2.3 A biologia reprodutiva da *Acacia mearnsii* De Wild.

Grant *et al.* (1994) mencionaram que a *Acacia mearnsii* é uma espécie andromonóica que apresenta flores hermafroditas e flores unissexuais masculinas no mesmo indivíduo. As flores podem conter o estilete reduzido e o ovário reduzido e não-funcional. A razão entre flores hermafroditas e masculinas é variável entre os indivíduos da espécie e entre os capítulos dentro do mesmo indivíduo. A porcentagem de flores masculinas em populações naturais de *A. mearnsii* foi estimada em aproximadamente 56, 25 e 26,5% em três anos consecutivos.

A composição masculina é formada por anteras bilobadas localizadas na porção terminal do filamento (KENRICK e KNOX, 1979). Cada lobo é dividido em quatro lóculos separados e pareados um acima do outro, os quais se abrem em uma fenda vertical no período de antese a fim de liberarem os grãos de pólen (KENRICK e KNOX, 1979; MONCUR *et al.*, 1991). Em *A. mearnsii* o pólen é agrupado junto em estruturas chamadas políades cada uma contem tipicamente 16 grãos de pólen. As políades são designadas para proteger o pólen e garantir a máxima germinação possível quando a políade está aderida ao estigma (KENRICK e KNOX, 1982).

A viabilidade e a germinabilidade polínica constituem-se em fatores importantes para o melhoramento de plantas, pois em algumas espécies cada grão de pólen leva consigo o material genético resultante da recombinação, fazendo com que estas plantas transmitam à próxima geração genótipos amplamente diversificados, tamanha a probabilidade de diferentes combinações entre os alelos que ocorre na meiose (SOUZA *et al.*, 2002).

Um fato importante que deve ser observado é o efeito da temperatura e da umidade relativa sobre as políades de *A. mearnsii*. Beck-Pay (2012) observou que

quando as políades foram expostas a temperaturas extremas ($>30^{\circ}$) e baixa umidade relativa (10%), a viabilidade de políades e desenvolvimento de tubo polínico decresceu significativamente. Em contraste, o efeito da alta umidade relativa em combinação com baixas temperaturas por longos períodos apresentou-se benéfico para a viabilidade de políades e crescimento de tubo polínico.

Na *A. mearnsii* a porção feminina é composta por um estigma de tamanho reduzido e com uma depressão com o formato de taça que pode abrigar apenas uma políade contendo 16 grãos de pólen. No interior do estigma de constituição simples, encontra-se o ovário simples contendo de 12 a 14 óvulos (KENRICK e KNOX, 1981a; MONCUR *et al.*, 1991; GRANT *et al.*, 1994). A espécie possui protoginia que previne a autofecundação e nos primórdios do desenvolvimento floral o estigma permanece envolto dentro do botão floral, emergindo rapidamente após o final do período da antese (KENRICK e KNOX, 1981a; MONCUR *et al.*, 1988). A fase feminina tem aproximadamente 24 horas e a fase masculina ocorre imediatamente após o final do período de receptividade do estigma, durando em média 96 horas.

Outro mecanismo que dificulta a autofecundação na acácia é a presença de um estilete de maior comprimento em relação aos estames (MONCUR *et al.*, 1988). De acordo com Mattsson *et al.* (1974) e Heslop-Harrison *et al.* (1975), a presença de enzima indicou o estado e o sítio de receptividade do estigma em outras angiospermas. De acordo com estudo realizado por Kenrick e Knox (1981b), o estigma das acácias apresenta uma depressão em forma de taça, na qual se acopla facilmente a apenas uma políade de 16 grãos. Grãos de pólen formados em estruturas compostas, como no gênero *Acacia* ocorrem somente em 52 famílias vegetais (GUINET e LE TOMAS, 1973).

Em estudos realizados para verificação de receptividade de estigma em diferentes estágios de antese, Stiel-Alves (2007) observou que a receptividade no início da abertura floral foi de 71%, alcançando a total receptividade (100%) em plena antese. Foi detectada viabilidade polínica no início da antese (77%) e em total abertura floral (88%). Na fase de senescência foram detectados estigmas receptivos (50%) e políades viáveis (23%).

De acordo com estudos realizados por Milton e Moll (1982), as acácias em sua maioria floresce na primavera ou verão. As inflorescências diferenciam-se seis meses antes da antese e os botões florais não se desenvolvem em baixas temperaturas. Em

regiões com chuvas bem-distribuídas, a antese é influenciada pela temperatura e pelo comprimento do dia. Os botões geralmente diferenciam-se durante a estação de crescimento, aumentando gradualmente de tamanho até o início da primavera, quando crescem rapidamente. O florescimento é relativamente retardado em locais de maior altitude e latitude (NEWMAN, 1934).

A maioria das acácias do sudeste australiano floresceram quando o comprimento do dia e a temperatura aumentaram, e poucas espécies floresceram no outono (KNOX *et al.*, 1985). As flores emitem perfume durante as fases feminina e masculina, mas aparentemente não emitem durante a noite nem antes das 8h30 minutos da manhã.

Segundo o estudo de Stiehl-Alves (2007) em talhões comerciais localizados no município de Butiá, observou-se sincronia e sazonalidade nas fases do florescimento e na frutificação da *A. mearnsii*. A formação de botões florais e a abertura das flores foram observadas em um período de elevação da temperatura acompanhado por chuvas, ocasião em que a disponibilidade de visitantes florais e a ciclagem de nutrientes aumentam. Foi observado um período de 12 meses entre o início da formação dos frutos e o seu pleno desenvolvimento. As fenofases foram sincrônicas, sugerindo uma estratégia de redução dos danos provocados por predadores de sementes. A abertura dos frutos também foi sincrônica e sazonal nas populações de *A. mearnsii* estudadas, tendo sido observada em uma época de temperaturas elevadas e com reduzida precipitação pluviométrica, período adequado à forma de dispersão (autocórica) exibida pela espécie.

Para Milton e Moll (1982), as vagens da maioria das espécies amadurecem durante a estação seca, e muitas permanecem na árvore por um ou mais anos. A retenção de vagens na copa tornou as sementes mais disponíveis para aves e mamíferos frugívoros do que para roedores e formigas. Quando as sementes caem, são rapidamente removidas por invertebrados, principalmente formigas. Berg (1975) descreveu que dentre 500 espécies diferentes de acácia, aproximadamente 300 têm suas sementes dispersadas por formigas. As sementes são transportadas pelas formigas e estocadas nos formigueiros, cujas condições as mantêm dormentes.

O período compreendido entre o início do florescimento e a maturação das vagens é de 12 a 14 meses em acácia-negra, relativamente longo quando comparado

com outras espécies como *Acacia filicifolia* Cheel e M.B. Welch, *Acacia decurrens* Wild., *Acaciadelbata* Link., nas quais esse período é de 5 a 6 meses (BOLAND, 1986).

Grant *et al.* (1994) relataram que o sistema de transferência de pólen de *A. mearnsii* pelas políades apresentou a vantagem de que a políade é capaz de fecundar todos os óvulos, porque no ovário o número de óvulos é igual ou inferior a dezesseis. Entretanto, a desvantagem é, em razão da autoincompatibilidade, as acácias somente produzem frutos e sementes, quando a políade que adere ao estigma for originária de outro indivíduo, caracterizando assim polinização cruzada. No entanto, quando a políade da própria planta cai sobre o estigma, não ocorre formação de semente.

Apis é considerada o vetor de polinização mais bem-sucedido entre as plantas (SEDGLEY *et al.*, 1991). O pólen das acácias era transferido de flor em flor e de planta em planta através de vetores animais (pássaros, abelhas e outros insetos) (SEDGLEY, 1987). Moncur *et al.* (1991) estudando a acácia-negra observaram inúmeras espécies de insetos visitando as flores. As abelhas (*A. mellifera*) observadas entre as acácias tiveram muitas políades aderidas em seus corpos.

Moncur *et al.* (1991), estudando a relação entre *A. mellifera* em povoamentos de acácias e eucaliptos, observaram que a atuação das abelhas causou um ligeiro aumento na produção de sementes de acácias, embora a análise tenha sido realizada em baixo número de vagens, considerando o vasto número de flores produzidas.

Segundo estudo realizado por Paula (2005), a *A. mellifera* foi identificada como sendo o principal vetor de polinização em povoamentos comerciais localizados nos municípios de Piratini, Cristal e Triunfo, no Estado do Rio Grande do Sul. O pólen contido nas patas das abelhas foi analisado e verificou-se que em 90% das amostras o pólen encontrado foi de acácia-negra.

Segundo Moncur *et al.* (1991), os nectários de muitas acácias produzem pouco ou nenhum néctar, a produção é descontínua e, muitas vezes, apresentam um pico de atividade durante a antese. Milton e Moll (1982) afirmam que as acácias, em geral, secretam néctar durante o período de florescimento e que a atividade é geralmente maior durante a primavera e verão do que no outono e inverno, os nectários foram mais ativos nas folhas novas, e sua atividade decresce com o aumento da idade da folha.

Nas Fabaceae, a ocorrência de autoincompatibilidade foi evidenciada com mais frequência em espécies da subfamília Mimosoideae, principalmente nas tribos

Acacieae, Mimoseae e Ingeae em relação às espécies das subfamílias Caesalpinioideae e Papilionoideae (ARROYO, 1981). A autoincompatibilidade vem sendo referida como condição ancestral nas angiospermas (NETTANCOURT 1997; GIBBS 1990). De acordo com Arroyo (1981), na família Fabaceae a autoincompatibilidade é mais difundida entre espécies arbóreas do que em espécies herbáceas.

Existem dois tipos de autoincompatibilidade, a gametofítica, em que a especificidade do pólen é gerada pelo alelo S do genoma haploide do grão de pólen (gametofítico), e a esporofítica, em que a especificidade é gerada pelo genótipo diploide da planta adulta (esporófito) que deu origem ao grão de pólen.

Estudos na Austrália e na África do Sul objetivando o conhecimento do sistema de cruzamento e dos fatores relacionados com a produção de sementes de acácia-negra concluíram que a espécie é predominantemente auto incompatível e que a autofecundação restringiu a produção de sementes através do aborto de embriões e pela viabilidade reduzida das sementes (MOFFET, 1956; COALDRAKE, 1971; KENRICK e KNOX, 1985; KENRICK e KNOX, 1989; MUONA *et al.*, 1991).

Outras espécies do gênero *Acacia* apresentaram a incompatibilidade total através da comparação da quantidade de sementes produzidas após a realização de autopolinização com lotes de sementes obtidas de polinização cruzada. A razão entre sementes produzidas por autofecundação e sementes advindas de polinização cruzada resulta no índice de autoincompatibilidade (*index of self-incompatibility* ou ISI), o qual foi proposto inicialmente por Zapata e Arroyo (1978) e que utiliza alguns critérios para a comparação: i) $ISI > 1$ (autocompatibilidade); ii) $0,2 < ISI < 1$ (autocompatibilidade parcial); iii) $ISI < 0,2$ (autoincompatibilidade na maioria dos cruzamentos); iii) $ISI = 0$ (autoincompatibilidade total).

Stiel-Alves (2007), em estudo de autoincompatibilidade de *A. mearnsii* em uma Área de Produção de Sementes verificou que a polinização cruzada ocorre na maioria dos cruzamentos ($ISI = 0,134$). O índice de autoincompatibilidade indicou que na maioria dos cruzamentos do germoplasma analisado houve a ação de mecanismos de autoincompatibilidade como forma de prevenir a autofecundação.

2.2.4 Aspectos da acacicultura no Brasil

Acácia-negra foi introduzida no estado do Rio Grande do Sul, por Alexandre Bleckman em 1918, particularmente no município de São Leopoldo. A escolha do Estado está justificada visto que é uma região análoga ao seu centro de origem. Porém, os primeiros plantios comerciais foram efetuados por Julio Lohman dez anos mais tarde no município de Estrela (OLIVEIRA, 1960, 1968; SCHENEIDER e TONINI, 2003).

O marco histórico do primeiro plantio comercial de acácia-negra no Brasil é no ano de 1930, quando foram importados 30 quilos de sementes da África do Sul. Acredita-se que todas as sementes utilizadas em plantios realizados até meados dos anos 80 tenham sido originadas desse material, pois não se tem nenhum registro de outra introdução de germoplasma nesse período (OLIVEIRA, 1968). A utilização industrial da acácia-negra iniciou-se em 1941, com a criação da SETA - Sociedade Extrativa Tanino de Acácia Ltda. Foi a primeira fábrica de tanino criada na América do Sul, depois das experiências positivas feitas pelos curtidores. Em 1948, foi fundada a Tanac S.A., tornando-se a maior empresa brasileira nesta atividade, líder do mercado interno e grande exportadora (MORA, 2002).

Visando melhorar a qualidade e produtividade das plantações de acácia-negra, a Embrapa Florestas, juntamente com a Tanac S.A. (produtora de tanino e cavacos de madeira), iniciou um programa de pesquisa em 1983. No estágio inicial, os trabalhos se concentraram na seleção de árvores em plantios comerciais e instalação de testes combinados de procedência e progênies com sementes introduzidas da Austrália (MORA, 2002).

No ano de 1983, foi firmado o convênio entre a Embrapa Florestas e a Tanac S.A. visando a realização de pesquisas com a acácia-negra. Naquela época existiam problemas como: disponibilidade apenas de sementes coletadas em formigueiros; variação no crescimento entre as árvores plantadas; copas danificadas pelo cascudo-serrador; árvores com gomose e sobrevivência em torno de 50% na idade de corte (MORA *et al.*, 2001). A primeira menção sobre melhoramento genético com acácia-negra no Brasil foi feita por Higa e Resende (1994), que relataram a coleta de 120 quilos de sementes, em 1984, na Área de Produção de Sementes (APS) instalada em Montenegro, RS. Os trabalhos de melhoramento iniciaram-se em Montenegro, com a instalação da primeira Área de Produção de Sementes (APS) em uma área de plantio comercial (MOCHIUTTI, 2007). A seleção das árvores foi feita através de seleção

massal, baseada em crescimento, vigor, forma e distribuição espacial. Posteriormente foram realizados mais dois ciclos de seleção, sendo a partir de 2001 produzidas sementes de terceira geração (MORA, 2002).

Historicamente, os primeiros plantios se concentraram em áreas próximas à encosta da Serra Gaúcha. Já, nas décadas de 70 e 80 os plantios foram realizados em áreas da Depressão Central e, vêm sendo plantados nessas duas regiões e, também, em áreas da Serra do Sudeste ou Escudo Sul- Riograndense (MORA, 2002).

2.2.5 Características silviculturais

A acácia-negra é a principal fonte de casca para a indústria de taninos vegetais em nível mundial, utilizados principalmente no curtimento de peles. Atualmente, os extratos tanantes disponíveis em escala comercial são extraídos, principalmente, da casca da acácia-negra e do cerne do quebracho (*Schinopsis balansae* Engl. e *S. lorentzii* Engl.) (MORA, 2002). A partir dos taninos também são produzidos adesivos para chapas de madeira e floculantes para tratamento de água, além de outros produtos como dispersantes, resinas, quelantes e conservantes, na clarificação de cervejas e vinhos (SIMON, 2005; FOWLER *et al.*, 2000).

Em plantações de acácia-negra no Rio Grande do Sul, aos oito anos de idade, a estimativa do teor médio de tanino na casca é de 27% ,ou seja, de cada 100 quilos de casca seca ao ar se obtém 27 quilos de tanino (MAESTRI, 1987). O aumento do teor de tanino é correlacionado positivamente com o aumento da idade (KRAEMER *et al.*, 1983; NICHOLSON, 1991; HIGA, 1992) e com a espessura da casca (KRAEMER *et al.*, 1983). Já em relação à altura da árvore, o teor de tanino diminui no sentido base - topo (SILVA *et al.* 1985).

A madeira da acácia-negra apresenta qualidade para a produção de celulose e papel, que atualmente constitui seu principal destino (STEIN; TONIETTO, 1997). Apresenta também um alto poder calorífico, tendo as pontas de troncos, galhos e árvores mortas aproveitadas para lenha e produção de carvão (KANNEGIESSER, 1990).

Plantações de acácia-negra apresentam características multifuncionais, pois além de produção florestal (madeira, lenha e casca) também oferecem serviços ambientais, como a recuperação e proteção de solos (MOCHIUTTI, 2007). A acácia-

negra é uma eficiente fixadora de nitrogênio, possui capacidade de adaptação a uma grande variedade de ambientes e habilidade de colonizar áreas que tenham perdido quase todo o solo superficial (KANNEGIESSER, 1990). Apresenta perfil ideal para recuperação de ambientes alterados, pois é uma pioneira de vida curta, cobre rapidamente o terreno, não tem demonstrado ser uma invasora agressiva dos ambientes naturais da região sul do Brasil, não rebrota de cepa ou raiz e não inibe a sucessão local (CARPANEZZI, 1998). A estimativa de fixação de nitrogênio de acácia-negra fica em torno de 200 kg/ha/ano (FRANCO; DÖBEREINER, 1994).

A acácia-negra é uma espécie de rápido crescimento, que alcança a taxa máxima de crescimento entre 3 e 5 anos de idade. Possui sistema radicular superficial, tornando-a susceptível ao tombamento por ventos fortes (KANNEGIESSER, 1990).

As plantações comerciais com sementes melhoradas compreendiam 18% da área plantada com acácia-negra no Rio Grande do Sul. Plantações com sementes de segunda geração apresentaram produções 16,8% superiores aos das sementes comuns de formigueiros (MORA, 2002). Na avaliação de procedências de acácia-negra, nas regiões agroecológicas da Encosta do Sudeste e Serra do Sudeste do Rio Grande do Sul, constatou-se uma baixa interação genótipo e ambiente para a produção de madeira, não havendo necessidade de selecionar procedências específicas para cada região avaliada (MORA, 2002). Para avaliação de progênies nas mesmas regiões, esta interação foi alta indicando que a seleção de progênies deve ser específica para cada região (MARTINEZ, 2006).

A acácia-negra não necessita de área preparada intensivamente, somente nos solos compactados é recomendada à subsolagem e gradagem nas linhas de plantio. Quando o produtor deseja consorciar com outras culturas anuais faz-se necessário o preparo total do solo, com aração e gradagem. Em área de segundo ciclo em diante, que não tenha sido compactada pela colheita, não há necessidade de preparo do solo, podendo ser realizado o plantio direto nas linhas de tocos, com aplicação de herbicidas (DEDECEK; HIGA, 2003; STEIN; TONIETTO, 1997).

O espaçamento utilizado por empresas florestais varia entre 3,00 x 1,66 a 3,00 x 1,33 m, correspondendo a uma densidade de 2.000 a 2.500 árvores/ha, respectivamente. Em áreas de produtores, os espaçamentos são bastante variados e até indefinidos, mantendo-se densidades de 2.500 a 3.000 árvores/ha (STEIN; TONIETTO, 1997). Estudos indicam que quanto menor o espaçamento maior a

produção de madeira e casca por hectare em menor idade, porém com menor diâmetro médio por árvore, menor densidade da madeira e menor teor de tanino na casca (SCHNEIDER *et al.*, 2000; SIMON, 2005). Maiores densidades de plantio também provocam maior mortalidade de plantas em idades mais jovens (SCHNEIDER *et al.*, 2005). MOCHIUTTI (2007), constatou que aumentando a densidade do plantio, os resultados são satisfatórios para espécie, pois espaçamento de 3,00 x 1,75 m não alterava a produtividade e é importante ressaltar que o espaçamento de 3,00 x 2,50 m vem sendo utilizado para plantios comerciais sem perda de produtividade.

O clima do Rio Grande do Sul, segundo a classificação de Köppen, se enquadra na zona fundamental temperada moderada ou "C", determinada pelas isotermas do mês mais frio compreendidas entre -3 e 18°C; tipo climático temperado úmido ou "Cf", que apresenta chuvas distribuídas por todo o ano, com precipitações mensais superiores a 60 mm. As isotermas do mês mais quente delimitam as variedades Cfa e Cfb, que apresentam a temperatura média do mês mais quente, respectivamente, superior e inferior 22°C (MORENO, 1961). As regiões da Encosta Inferior do Nordeste, Depressão Central e Encosta do Sudeste pertencem à variedade Cfa e na Serra do Sudeste ocorre a Cfb nas partes mais altas e a Cfa nas partes mais baixas (MOCHIUTTI, 2007).

2.2.6 Propagação vegetativa de acácia-negra

A propagação vegetativa possui lugar especial no setor florestal, onde o seu uso econômico é justificado quando há disponibilidade de genótipos de alta produtividade e ou, se as sementes são insumos limitados. Nestas condições, um programa que utilizava propagação vegetativa pode distribuir com maior rapidez e eficiência os ganhos adquiridos pelo melhoramento genético. Além disso, na propagação vegetativa, consegue-se capturar o componente genético total (aditivo e não aditivo), o que resulta em maiores ganhos dentro de um mesmo ciclo de seleção (PIRES *et al.*, 2011).

A maioria das espécies lenhosas normalmente é de natureza heterozigótica, imposta pela alogamia quase que obrigatória no processo de reprodução das plantas; na maioria das espécies; a forma principal e natural de propagação é por via seminal. Diante disso, a alternativa utilizada no setor florestal para obtenção de materiais,

visando atingir determinados propósitos, foi o uso da propagação vegetativa no processo de produção de mudas clonais (XAVIER *et al.*, 2009).

No Brasil a silvicultura intensiva clonal de eucalipto foi implantada no final da década de 1970, via coleta de brotações de cepas no campo e o enraizamento das estacas em casa de vegetação em condições ambientais controladas (PIRES *et al.*, 2011). Embora a acácia-negra, seja uma espécie plantada no Brasil desde o fim da década de 1920, a silvicultura clonal da espécie demonstrou-se incipiente até a última década e com isso demonstrou grande heterogeneidade de plantios o que ressaltou a importância da pesquisa de desenvolvimento de protocolos para regeneração da espécie via estacas e cultivo *in vitro*.

BORGES *et al.* (2004), estudando a influência da altura da cepa no desenvolvimento da brotação em árvores adultas concluiu que cortes na altura de 60 cm promoveu elevado índice de rebrota e com melhores resultados na época da primavera. PERRANDO e MARTINS CORDER (2006), avaliando o efeito da idade, época do ano e altura do corte sobre a capacidade de rebrota da acácia-negra verificaram que corte na altura de 1,2 até 2 m em indivíduos com quatro anos apresentou a maior média para capacidade rebrota. Observou-se também que a rebrota é estimulada principalmente quando o corte é realizado na época do outono e primavera e que o verão é a época menos adequada para esse procedimento.

Relatos de cultivo *in vitro* da espécie acácia-negra iniciaram-se na década de 1990 (ASSIS *et al.*, 1993; CORREIA e GRAÇA, 1995; BECK e DUNLOP, 1998; BORGES *et al.*, 2004), os estudos demonstram em geral a dificuldade da micropropagação da espécie devido à baixa capacidade de multiplicação e desenvolvimento de gemas. SALLES (2014), demonstrou a necessidade de melhorar a eficiência de protocolos de clonagem da espécie, visto as dificuldades ainda encontradas no desenvolvimento da clonagem. As dificuldades são encontradas principalmente com estacas provenientes de mini-jardim clonal visto a presença de fungos endofíticos e melhores resultados tem sido obtidos através de germinação *in vitro* de sementes de indivíduos selecionados.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, T.F. et al. Propagação vegetativa da acácia-negra (*Acacia mearnsii*). In: CONGRESSO FLORESTAL PANAMERICANO, 7; CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 1., 1993, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBS/SBEF, 1993. p. 150-152.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS (ABRAF). **Anuário estatístico da ABRAF 2013**: ano base 2012. Brasília: ABRAF, 2013. 149 p.
- ARROYO, M.T.K. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In: Polhill, R.M.; Raven, P.H. (Eds.). **Advances in legume systematics II**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p. 723-769.
- AVANI, D.M.; SANTOS, F.S.; CARVALHO, I.M.; MACHADO, V.L.S.; PACHECO, L.G.P.A. Abordagem sobre Proteção e Registro de Cultivares. In: FALEIRO, F.G.; FARIAS NETO, A.L.; RIBEIRO JUNIOR, W.Q. **Pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento: estratégias e desafios**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 167-183.
- AVIANI, D.M.; MACHADO, R. Z. União internacional para Proteção das Obtenções Vegetais (UPOV). In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2011. p.17-22.
- AVIANI, D.M. Limitações ao Direito do Titular. In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2011. p. 85-90.
- AVIANI, D.M.; SANTOS, F.S. Uso de marcadores moleculares em proteção de cultivares. In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2011. p. 155-158.
- AVIANI, D.M. **Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC**. Disponível em: <<http://www22.sede.embrapa.br/snt/html/propriedadeintelectual/palestras/palestra3%20prote%E7%E3ocultivares.pdf>>. Acesso em: 23 de jul. 2015.
- BALLVE, R.M.L.; MEDINA-FILHO, H.P.; BORDIGNO, R. Identification of reciprocal hybrids in citrus by the broadness of the leaf petiole wing. **Brazilian Journal of Genetics**, v.20, n.4, p.697-702, 1997.
- BECK, S.L.; DUNLOP, R.; van STADEN, J. Micropropagation of *Acacia mearnsii* from ex vitro material. **Plant Growth Regulation**, v. 26, p.143-148, 1998.
- BECK-PAY, S.L. Identification of pre-zygotic reproductive and morphological barriers limiting controlled crosses seed production of triploid *Acacia mearnsii*. **South African Journal of Botany**, n. 79, p. 51-61, 2012.

BERG, R.Y. Myrmecochorous plants in Australia and their dispersal by ants. **Australian Journal of Botany**. v.23, p.475-508, 1975.

BOLAND, D.J. *et al.* **Forest trees of Australia**. Melbourne: Nelson-CSIRO, 1984.

BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de Plantas**. 6° ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2013. 523 p.

BORGES, N.J. *et al.* Rebrotas de cepas de árvores adultas de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.28, n.4, p.611-615, 2004.

BORGES, N.J.; SOBORSA, R.C.; MARTINS CORDER, M.P. Multiplicação in vitro de gemas axilares de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.28, n.4, p.493- 498, 2004.

BRASIL. Lei nº 9.279, de 14 de maio de 1996. Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, ano 134, n. 93, 15 maio 1996. Seção 1, p.1.

_____. Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997. Institui a Lei de Proteção de Cultivares e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, ano 135, n. 79, 28 abr. 1997. Seção 1, p.1.

_____. Decreto-lei nº 2.366, de 05 de novembro de 1997. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1, página 7 e alterado pelos DOU de 16 de agosto de 2011, Seção 1, página 35 de 31 de dezembro de 2010.

_____. Decreto-lei nº 2.366, de 05 de novembro de 1997. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1, página 2 e 4 de 06 de maio de 2013a.

_____. Decreto-lei nº 2.366, de 05 de novembro de 1997. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1, página 7 e alterado pelos DOU de 16 de agosto de 2011, Seção 1, página 7 e pelo DOU, Seção 1, página 7 de 15 de maio de 2013b.

_____. Decreto-lei nº 2.366, de 05 de novembro de 1997. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1, página 6 e 7, de 19 de maio de 2015a.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Informações ao Usuário**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/INFORMACOES_AOS_USUARIOS_SN_PC_nov2010.pdf>. Acesso em: 09 jun. 2015b.

_____. Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003. Dispõe sobre o sistema nacional de sementes e mudas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, ano 140, n. 150, 06 ago. 2003. Seção 1, p. 1. Disponível em: <

http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/L10.711.htm >. Acesso em: 10 jun. 2015c.

CARPANEZZI, A.A. Espécies para recuperação ambiental. In: GALVÃO, A.P.M. (Coord.) **Espécies não tradicionais para plantios com finalidades produtivas ambientais**. Colombo: Embrapa, 1998. p. 43-53.

CARVALHO, S.I.C.; BIANCHETTI, L.B.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Registro e proteção de cultivares pelo setor público: a experiência do programa de melhoramento de *Capsicum* da Embrapa Hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v.27, p. 135-138, 2009.

CASTRO, A.M.G.; LIMA, S.M.V.; LOPES, M.A.; MACHADO, M.S.; MARTINS, M.A.G. **O futuro do melhoramento genético vegetal no Brasil: impactos da biotecnologia e das leis de proteção de conhecimento**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 506 p.

COALDRAKE, J.E. Some floral, seed and growth characteristics of *Acacia harpophylla* (Brigalow). **Australian Journal of Botany**, v.19, p 335-352, 1971.

CORREIA, D.; GRAÇA, M.E.C. In Vitro propagation of black wattle (*Acacia mearnsii* De Wild.). **IPEF**, v. 48/49, p. 117-125, 1995.

DEDECEK, R.A.; HIGA, R.C.V. (Resp.). **Cultivo da Acácia-negra**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. Versão eletrônica. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/AcaciaNegra/CultivodaAcaciaNegra/index.htm>> . Acesso em: 09 jun. 2015.

DIZARD, R.; MARTINS CORDER, M.P. Multiplicação de gemas axilares de *Acacia mearnsii* De Wild. sob diferentes meios de cultura. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.33, n.4, p.599-606, 2009.

EDLUND, A.F.; SWANSON, R.; PREUSS, D. Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination. **The Plant Cell**, v.16, p.84-97, 2004.

FOWLER, J.A.P.; CURCIO, G.R.; RACHWAL, M.F.G.; DEDECEK, R.A.; SIMON, A.A. **Germinação e vigor de sementes de *Acacia mearnsii* De Wild. coletadas em diferentes povoamentos do Rio Grande do Sul**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2000. p. 1-4. (Comunicado Técnico, n. 39).

FRANCO, A.A.; DÖBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Summa Phytopathologica**, v. 20, n. 1, p. 68-74, 1994.

GIBBS, P.E. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. **Revista Brasileira de Botânica**, n. 13, p.125-136. 1990.

GRANT, J.E.; MORAN, G.F.; MONCUR, M.W. Pollination studies and breeding system in *Acacia mearnsii*. In: BROWN, A.G. **Australian tree species research in China**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1994. p. 165-170.

GUINET, P.; LE THOMAS, A. Interprétation de la répartition dissymétrique des couches de l'exine dans le pollen composés. **Comptes Rendus de L'Académie des Sciences**, v.276, p.1545-8, 1973.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y.; BARBER, J. The stigma surface in incompatibility responses. **Proceedings of the Royal Society of London**. Serie B., v.188, p.287-297, 1975.

HIGA, A.R. **Acacicultura na África do Sul**. Curitiba: Embrapa, 1992. 18 p. Relatório técnico.

HIGA, A.R.; RESENDE, M.D.V. de. Breeding *Acacia mearnsii* in Southern Brazil. In: AUSTRALIAN TREE SPECIES RESEARCH IN CHINA, 1992, Zhabgzhou. **Proceedings**, 48. Canberra: ACIAR, 1994. p. 158-160.

HNATIUK, R.J.; MASLIN, B.R. Phytogeography of *Acacia* in Australia in relation to climate and species-richness. **Australian Journal of Botany**, n.36, p.361-383, 1988.

HOPPER, S.D.; GIOIA, P. The southwest Australian floristic region: evolution and conservation of a global hot spot of biodiversity. **Annual review of ecology, evolution and systematics**, n.35, p. 625-650, 2004.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES (IBA). **Dados e estatísticas**. 2015. Disponível em: <<http://www.iba.org/pt/dados-e-estatisticas>>. Acesso em: 23 jul. 2015.

KANNEGIESSER, S.U. Apuntes sobre algunas acacias australianas. 1.- *A. mearnsii* De Wild. **Ciencia e Investigación Forestal**. Santiago, v.4, n.2, p. 198-212, 1990.

KENRICK, J.; KNOX, R.B. Quantitative analysis of self-incompatibility in trees of seven species of *Acacia*. **Journal of Heredity**, v.80, p.240-245, 1989.

KENRICK, J.; KNOX, R.B. Function of the polyad in reproduction of *Acacia*. **Annals of Botany**, n. 50, p. 721-727, 1982.

KENRICK, J.; KNOX, R.B. Pollen development and cytochemistry in some Australian species of *Acacia*. **Australian Journal of Botany**, v.27, p.413-427, 1979.

KENRICK, J.; KNOX, R.B. Self-incompatibility in the nitrogen-fixing tree, *Acacia retinoides* – quantitative cytology of pollen-tube growth. **Theoretical and Applied Genetics**, v.69, n.5-6, p.481. 1985.

KENRICK, J.; SH, R.B. Structure and histochemistry of the stigma and style of some Australian species of *Acacia*. **Australian Journal of Botany**, v. 29, n.6, p.733-745, 1981a.

KENRICK, J.; KNOX, R.B. Post-pollination exudate from stigmas of *Acacia* (Mimosaceae). **Annals of Botany**, n. 48, p. 103-106, 1981b.

KNOX, R.B.; KENRICK, J.; BERNHARDT, P. *et al.* Extrafloral nectarines as adaptations for bird pollination in *Acacia terminalis*. **American Journal of Botany**, v.72, n.8, p.1185-1196, 1985.

KRAEMER, K.H.; MACEDO, I.B.; VICENTE, M. de S.; KERBER, L.A.; COSTA, M.A.P. **Estudos para melhoramento da acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.)**. Projeto para o curso de Economia Florestal, Montenegro, abr. 1983.

MACHADO, R.Z. Elaboração de diretrizes de Distingüibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE). In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2011. p.121-143.

MAESTRI, R.; GRAÇA, L.R.; SIMOES, J.W.; FREITAS, A.J.P. Análise da adubação fosfatada na produção física e econômica da acácia-negra. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Curitiba, n.17, p. 39-53, jun. 1987.

MARTINEZ, D.T. **Seleção genética de *Acácia mearnsii* De Wild. (acácia-negra) visando o aumento da qualidade e produtividade de madeira e tanino no Rio Grande do Sul**. 2006. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MASLIN, B.R. The role and relevance of taxonomy in the conservation and utilization of Australian *Acacia*. **Conservation Science**, n. 4, p.1-9, 2002.

MASLIN, B.R.; MILLER, J.T.; SEIGER, D.S. Overview of the generic status of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae). **Australian Systematic Botany**, n. 16, p.1-18, 2003.

MATTSSON, O. *et al.* Protein pellicle of stigmatic papillae as a probable recognition site in incompatibility reactions. **Nature**, v.247, p.295-327, 1974.

MCDONALD, M.W.; MASLIN, B.R.; BUTCHER, P.A. Utilisation of acácias. In: **Flora of Australia**: Volume 11A, Mimosaceae, *Acacia* Part 1. Melbourne, Australia: CSIRO Publishing, 2001. p. 30-40.

MIDGLEY, S.J.; TURNBULL, J.W. Domestication and use of Australian acacias: case studies of five important species. **Australian Systematic Botanic**, n.16, p. 89-102, 2003.

MILTON, S.J.; MOLL, E.J. Phenology of Australian Acacias in the S.W. Cape, South African and its implications for management. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.84, p.295-327, 1982.

MOCHIUTTI, S. **Produtividade e sustentabilidade de plantações de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) no Rio Grande do Sul**. 2007. 286 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MOFFET, A.A. Genetical studies in acacias. The estimation of natural crossing in black wattle. **Journal of Heredity**, v.10, p. 57-67, 1956.

MONCUR, M.W.; MORAN, G.F.; BOLAND, D.J.; TURNER, J. Floral morphology and breeding systems of *Acacia mearnsii* De Wild. In: USE OF AUSTRALIAN TREES IN CHINA, 1988, Guangzhou. **Proceedings...** Canberra: ACIAR, 1989. p.266-276.

MONCUR, M.W.; MORAN, G.F.; GRANT, J.E. Factors limiting seed production in *Acacia mearnsii*. In: ADVANCES IN TROPICAL ACACIA, 1991, Bangladesh. **Proceedings...** Bangladesh: ACIAR, 1991. p.20-25.

MORA, A.L. **Aumento da produção de sementes geneticamente melhoradas de *Acacia mearnsii* De Wild. (Acácia negra) no Rio Grande do Sul.** 140 f. 2002. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

MORA, A.L.; SANTOS, A.F. dos; HIGA, A.R.; SIMOM, A.A. **Relatório de visita à África do Sul.** Curitiba: FUPEF, 2001. 12 p. Relatório técnico.

MORENO, J.A. **Clima do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1961.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, n.403, p. 853-858, 2000.

NETTANCOURT, D. Incompatibility in angiosperms. **Sexual Plant Reproduction**, n. 10, 185-199.1997.

NEWMAN, I.V. Studies in the Australian acacias. III. Supplementary observations on the habit, carpel, spore production and chromosomes of *Acacia baileyana* F.V.M. **Proceedings of the Linnean Society**, v.59, p.237-251,1934.

NICHOLSON, C.R.L. Re-appraisal of the variation of bark components and quality with age in black wattle trees. **ICFR Annual Research Report**, Pietermaritzburg, p. 221-225, 1991.

NGHIEM, Q.C.; HARBARD, J.L.; HARWOOD, C.E.; GRIFFIN, A.R.; HA, T.H.; KOUTOULIS, A. Pollen-pistil interactions between autotetraploid and diploid *Acacia mangium* and diploid *A. auriculiformis*. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 25, p. 96-110, 2013.

OLIVEIRA, H.A. **Acácia negra e tanino no Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Tipografia Mercantil, 1960. 116p.

OLIVEIRA, H.A. **Acácia-negra e tanino no Rio Grande do Sul.** Canoas: La Salle, 1968.

PAULA, K.R. **Fatores ambientais e genéticos na produção de sementes de acácia-negra.** 2005. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

PERRANDO, E.R.; MARTINS CORDER, M.P. Rebrotas de cepas de *Acacia mearnsii* em diferentes idades, épocas do ano e alturas de corte. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.41, n.4, p.555-562, abr. 2006.

PIRES, I. E. *et al.* **Genética Florestal**. Viçosa, MG: Arka, 2011. 318 p.

RAMOS, S.R.R.; QUEIROZ, M.A. Caracterização morfológica: experiência do BAG de cucurbitáceas da Embrapa Semi-Árido, com acessos de abóbora e moranga. **Horticultura Brasileira**, v.17, suplemento, p. 9-12, 1999.

ROOIJEN, S. Exercício do Direito do Titular da Proteção. In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2011. p.73-84.

SANTOS, F.S.; PACHECO, L.G.A. Testes de DHE. In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2011. p.161-168.

SCHNEIDER, P.R.; FLEIG, F.D.; FINGER, C.A.G.; KLEIN, J.E.M. Crescimento da acácia-negra, *Acacia mearnsii* De Wild em diferentes espaçamentos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 10, n. 2, p. 101-112, 2000.

SCHNEIDER, P.R.; FORTES, F.O.; SOUZA, L.H.S.; LÚCIO, A.D.; FINGER, C.A.G.; SCHNEIDER, P.R.P. Análise da mortalidade de *Acacia mearnsii* De Wild. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 2, p. 137-143, 2005.

SCHNEIDER, P.R.; TONINI, H. Utilização de variáveis dummy em equações de volume para *Acacia mearnsii* de Wild. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 2, p. 121-129, 2003.

SEDGLEY, M. Reproduction biology of *Acacias*. **Australian Acacias in Developing Countries**: Australian Centre for International Agricultural Research Proceedings, n. 16, Aciar, Canberra, pp.54-56, 1987.

SEDGLEY, M.; KHEN, C.V.; SMITH, R.M.; HARBARD, J. Insect visitors to flowering branches of *Acacia mangium* and *Acacia auriculiformis*. In: CARRON, L.T; AKEN, K.M. (Ed). **Breeding technologies for tropical acacias**: Proceedings of an international workshop held in Tawau, Sabah, Malaysia. Bangkok, Thailand, n. 37, p.51-56, 1991.

SILVA, M.C.M. da; FRIZZO, S.M.B.; VINADÉ, M.E. do; WEILLER, A.R. Determinação de tanino na casca de *Acacia mearnsii* Wild em diferentes alturas do tronco. **Ciência e Natura**, Santa Maria, n. 7, p. 57-61, 1985.

SIMON, A.A. A cadeia produtiva da acácia-negra, aspectos econômicos, sociais e ambientais. In: STROHSCHOEN, A.G.; REMPEL, C. **Reflorestamento e recuperação ambiental**: Ambiente e tecnologia: o desenvolvimento sustentável em foco. Lajeado: Univates, 2005. p. 149-166.

SOUZA M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa degener*). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.26, n.6, p.1209-1217, nov. 2002.

STEIN, P.P.; TONETTO, L. Black Wattle Silviculture in Brazil. In: BROWN, A.G.; KO, H.C. (Ed.). **Black Wattle and its Utilisation**. Barton: RIRDC, 1997. p. 78-82.

STIEHL-ALVES, E.M. **Análise da biologia reprodutiva em *Acacia mearnsii* de Wild (Fabaceae)**. 2007. 166p. Dissertação (Mestrado em Geomática) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

VIANA, A.A.N. A proteção de cultivares no contexto da ordem econômica mundial. In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2011. p.11-16.

VIEIRA FILHO, J.E.R.; VIEIRA, A.C.P. **A inovação na agricultura brasileira: uma reflexão a partir da análise dos certificados de proteção de cultivares**. Brasília; Rio de Janeiro: IPEA, 2013. p. 42.

VIEIRA, A.C.P.; BUANIN, A.M. Aplicação da propriedade intelectual no agronegócio. In: PLAZA, C. M. C. A. *et al.* (Coord.). **Propriedade intelectual na agricultura**. Belo Horizonte: Fórum, 2011. p. 21-50.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. **Silvicultura Clonal: Princípios e técnicas**. Viçosa: Ed. UFV, 2009. 272 p.

WARDILL, T.J.; GRAHAM, G.C.; ZALUCKI, M.; PALMER, W.A.; PLAYFOR, J.; SCOTT, K.D. The importance of species identity in the biocontrol process: identifying the subspecies of *Acacia nilotica* (Leguminosae: Mimosoideae) by genetic distance and the implications for biological control. **Journal of Biogeography**, n. 32, p. 2145-2159, 2005.

WICKENS, G.E.; SEIF-EL-DIN, A.G.; SITA, G.; NAHAL, I. **Role of Acacia species in the rural economy of dry Africa and the Near East**. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization, 1995. (FAO Conservation Guide n. 27).

ZAPATA, T.R.; ARROYO, M.T.K. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. **Biotropica**, v.10, p. 221-230, 1978.

3 CAPÍTULO 1 - REPETIBILIDADE E DISSIMILARIDADE DE CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS DE SEMENTES DE ACÁCIA-NEGRA (*Acacia mearnsii* De Wild.)

RESUMO

Estimativas do coeficiente de repetibilidade têm sido utilizadas no estudo de caracteres de várias espécies, auxiliando na definição do número de avaliações de genótipos. Para acácia-negra não há relatos de estudos dessa natureza. Nesse contexto, faz-se importante a determinação do coeficiente de repetibilidade das seguintes características biométricas de sementes: peso, comprimento, largura, espessura e tamanho do hilo; e a determinação do número mínimo de avaliações de caracteres morfológicos em sementes. A diversidade genética dos clones foi avaliada pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando a distância de Mahalanobis como medida de dissimilaridade. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Genética e Melhoramento Florestal da UFPR com sementes provenientes de pomar clonal implantado em Piratini no Rio Grande do Sul. Houve diferenças estatisticamente significativas para as características comprimento, largura, espessura e tamanho do hilo e observou-se variação na magnitude dos coeficientes de repetibilidade de cada característica, obtidas por diferentes métodos. No entanto, os coeficientes de repetibilidade das características variaram de 0,2660 a 0,9958. As estimativas do coeficiente de determinação foram superiores a 92%. Concluiu-se que a avaliação de 22 sementes é suficiente para compreensão das características estudadas das sementes de acácia-negra com 90% de acurácia. A realização do método de agrupamento UPGMA demonstrou a formação de dois grupos. As características que mais contribuíram para a discriminação das sementes foram espessura e tamanho do hilo.

Palavras-chave: coeficiente de repetibilidade, agrupamento; dissimilaridade

ABSTRACT

Estimates of the repeatability coefficient have been used for studies of several species, helping in the definitions of the number of required genotype evaluations. For black wattle, there are no studies of such type up to now. With that in mind, it is important to determine the repeatability coefficient for the following biometrical seed features: weight, length, width, thickness, hilum size; and the determination of the minimum required number for the evaluation of seeds morphological features. The genetic diversity of the clones was evaluated using method of clustering UPMA hierarchical clustering approach and using Mahalanobis distance as a measure of dissimilarity. The study was conducted at the Genetics and Forestry Improvement Laboratory (LAMEF) at UFPR, using seeds from the clonal seed orchard located in Piratini, Rio Grande do Sul. There was statistically significant difference for the features, length, width, thickness and hilum size and it was possible to notice a variation in the range of the repeatability of each feature depending on the method it was obtained from. However, the repeatability coefficient ranged from 0.2660 to 0.9958. The estimated determination coefficient was over 92%. Thus, it was possible to conclude that the evaluation of 22 seeds is enough for the understanding of the studied traits of black wattle seeds at 90% accuracy level. By using method of clustering UPMA hierarchical clustering approach, two clusters were formed. The features, which influenced the most for the seed distinguishability, were thickness and hilum size.

Key words: repeatability coefficient, clustering, dissimilarity

3.1 INTRODUÇÃO

Durante o processo de seleção de plantas com vistas ao lançamento de novas cultivares é importante que se tenha certeza da superioridade genética dos indivíduos. Para tanto, são realizadas, muitas vezes, medições repetidas no mesmo indivíduo de uma estrutura vegetal. O conhecimento do coeficiente de repetibilidade das características permite avaliar o dispêndio de tempo e de mão-de-obra necessários para que a seleção de indivíduos geneticamente superiores seja feita com a acurácia desejada pelo pesquisador. Valores altos da estimativa do coeficiente de repetibilidade do caráter avaliado indicam que é possível predizer o valor real dos indivíduos com um número relativamente pequeno de medições (CORNACCHIA *et al.*, 1995).

O coeficiente de repetibilidade tem sido aplicado com sucesso nas avaliações de caracteres morfológicos em pupunheira (PADILHA, *et al.*, 2003), bacuri (SILVA, *et al.*, 2009), macaúba (MANFIO, *et al.*, 2011), capim-elefante (CAVALCANTE, *et al.*, 2012), muricizeiro (LOURENÇO, *et al.*, 2013) e soja (MATSUO, *et al.*, 2012).

A repetibilidade expressa o valor máximo que a herdabilidade no sentido amplo pode atingir. Pois estimando-se a repetibilidade de um caráter, é possível separar o componente de variância proveniente do ambiente casual (temporário ou localizado), mas normalmente deixa-se o componente de variância do ambiente permanente que atua na cultivar e/ou progênes confundido com a variância genotípica (CRUZ *et al.*, 2012). Assim, a repetibilidade, à semelhança da herdabilidade, constitui instrumento indispensável para orientar os trabalhos de melhoramento (FERREIRA *et al.*, 2010; CRUZ *et al.*, 2012). Altos valores desse coeficiente, para quaisquer características, indicam que é possível predizer o valor real dos indivíduos com base em determinado número de medições, indicando assim baixos ganhos em acurácia quando aumenta-se o número de medições repetidas (MARTUSCELLO *et al.*, 2007).

Segundo Vencovsky (1977), o coeficiente de repetibilidade é muito utilizado no estudo de características de plantas perenes, por se expressar várias vezes ao longo de sua vida, e basear-se na tomada de várias observações no mesmo indivíduo. Assim sendo, ao se escolher um determinado genótipo, almeja-se que a superioridade inicial continue constante durante todo o período de vida. No entanto, na literatura, são poucas as informações mais detalhadas sobre a quantidade de plantas que

devem ser mensuradas, exclusivamente sobre a acácia-negra não existem relatos de parâmetros a serem utilizados para este tipo de análise.

Assim, visando contribuir para na escolha dos descritores mínimos com vistas ao estabelecimento de descritores morfológicos de acácia-negra, o trabalho teve como objetivo estimar o coeficiente de repetibilidade em caracteres de sementes para então determinar, o número de medições ideal e o coeficiente de determinação, bem como analisar a dissimilaridade genética entre clones para as características de sementes de acácia-negra.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo, foram analisadas as sementes de um pomar clonal localizado no município de Piratini, RS, onde foram coletadas sementes de nove clones (genótipos) de acácia-negra (*A. mearnsii*) com dois anos de idade. A temperatura média do município é de 17,2°C sendo que no mês da coleta a média da temperatura foi de 20° C sendo a temperatura mínima de 14,4° C e máxima de 26° C (Climate-date, 2015). Cada clone foi representado por uma matriz da qual foram coletadas 50 sementes. Foram mensuradas cinco características: peso, comprimento longitudinal, comprimento transversal, espessura e o tamanho do hilo. O caractere peso foi realizado em balança de precisão pesando cada sementes separadamente e os demais caracteres com paquímetro digital.

As análises estatísticas, para todos os caracteres das sementes, foram realizadas pelo método de análise de variância (ANOVA); componentes principais com base na matriz de correlações (CPC); componentes principais com base na matriz de covariâncias (CP); e análise estrutural (AE), com base na matriz de correlações.

Para o método de análise de variância, o coeficiente de repetibilidade obtido com um fator de variação segundo o modelo: $Y_{ij} = \mu + G_i + E_{ij}$, em que: Y_{ij} = observação referente ao i-ésima amostra na j-ésimo medição; μ = média geral; G_i = efeito do i-ésima amostra sob influência do ambiente permanente ($i = 1, 2...p$); E_{ij} = erro experimental atribuído aos efeitos temporários do i-ésimo clone no j-ésima amostra.

O coeficiente de repetibilidade foi dado por:

$$r = \rho = \frac{\sigma^2g}{\sigma^2 + \sigma^2g},$$

Em que: σ^2g = estimativa da variância entre genótipo e σ^2 = estimativa da variância do erro experimental. Com isso, foram estimados os resultados da análise de variância para cada variável descrita e estimado então os componentes de variância associados aos efeitos genéticos e residual.

Com base na matriz de correlações na matriz de covariâncias entre cada par de medições, avaliadas nas diferentes amostras de acácia-negra. As estimativas dos coeficientes de repetibilidade foram obtidas pelo método de componentes principais (ABEYWARDENA, 1972).

O método de análise estrutural com base na matriz de correlações entre as famílias também foi utilizado para estimar o coeficiente de repetibilidade, de acordo com o proposto por Mansour *et al.* (1981). Esse estimador é a média aritmética das correlações fenotípicas entre genótipos, considerando um par de medições (CRUZ *et al.*, 2012).

O número de medições (n_0) necessárias para predizer o valor real das seleções de acácia-negra, com probabilidades de 80, 85, 90, 95 e 99% foram calculados segundo Cruz e Regazzi (2012), por meio da seguinte expressão:

$$\eta = \frac{R^2(1-r)}{(1-R^2)r}.$$

O coeficiente de determinação genotípica (R^2) representa a porcentagem de certeza da predição do valor real dos indivíduos selecionados com base em número de medições e foi obtido pela seguinte expressão:

$$R^2 = \frac{\eta r}{1+r(\eta-1)}$$

Foi utilizada a análise multivariada, permitindo a obtenção das matrizes de dissimilaridade, de covariância residual e das médias dos genótipos. Posteriormente, foram determinadas as variáveis canônicas, conforme relatado por Rao (1952), com o propósito de identificar genótipos similares em gráfico de dispersão bidimensional e utilizando a distância generalizada de Mahalanobis (D^2) como medida de dissimilaridade. Utilizou-se, também, o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa dessas características para a divergência genética entre os clones. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa computacional GENES (CRUZ, 2006a; 2006b; 2013).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados da análise de variância, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$) para quatro características analisadas: comprimento, largura, espessura e hilo (Tabela 1). Enquanto que para a característica peso, não houve diferença significativa. Para as características onde houve diferença significativa, evidencia-se a variabilidade existente entre as amostras estudadas. As médias das características foram de 4,75 mm para comprimento, 3,16 mm para largura, 2,37 mm para espessura e 1,29 mm para o hilo. Já para a característica não significativa de peso, a média foi de 0,00242 g.

TABELA 1 – CONTRIBUIÇÃO RELATIVA DE CINCO CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE SEMENTES AVALIADAS EM 50 SEMENTES DE NOVE CLONES DE ACÁCIA-NEGRA

Características morfológicas	Contribuição relativa %
Peso	0,4868
Comprimento	8,7276
Largura	5,0383
Espessura	71,5806
Tamanho do hilo	14,1667

FONTE: O autor (2015)

Resende (2002), relata que a estimativa da repetibilidade (r) é alta quando $r \geq 0,6$. O caractere espessura das sementes se destacou com os maiores valores de r ($0,7825 \geq r \geq 0,8011$) (Tabela 2), ou seja, a expressão dessa variável apresentou alta regularidade entre as medidas repetidas. Já para o tamanho do hilo ($0,0445 \geq r \geq 0,5057$), o que caracteriza baixa regularidade entre as medidas repetidas e evidencia a influência ambiental sobre essas variáveis. Já para os caracteres comprimento de sementes ($0,3588 \geq r \geq 0,4636$) e largura de sementes ($0,1943 \geq r \geq 0,3191$), a estimativa de r apresentou valores de baixa magnitude. Em contrapartida, o caractere peso de sementes apresentou a maior amplitude da estimativa do r ($0,266 \geq r \geq 0,9958$), essa discrepância explica-se pelo método de análise utilizado.

Abeywardena (1972) relata que a estimativa mais adequada do coeficiente de repetibilidade é aquela obtida pelo método embasado nos componentes principais, isso quando os genótipos apresentam comportamento cíclico ao longo das avaliações

em relação ao caráter estudado. Em muitas espécies, a produção ocorre de forma oscilante, havendo grande variabilidade de produção entre um ano e outro. Como este efeito pode variar de maneira e intensidade diferentes entre os genótipos, a análise de variância utilizada para estimar o coeficiente de repetibilidade usual, pode não eliminar esse componente adicional do erro experimental, e, conseqüentemente, o estimador de repetibilidade estaria subestimado (CRUZ *et al.*, 2012). A característica peso de sementes pode estar sob influência dessa variação de produção anual e portanto, para essa variável não foi determinado o coeficiente de repetibilidade pelo método ANOVA.

A diferença entre a repetibilidade e a herdabilidade se deve ao fato de que a variância genotípica utilizada para estimar a repetibilidade não é somente de origem genética, uma vez que o componente de variância do ambiente permanente entre indivíduos permanece. Assim, a repetibilidade aproxima-se da herdabilidade à medida que a variância proporcionada pelos efeitos permanentes do ambiente é minimizada. Se a variância genotípica estimada fosse puramente de natureza genética, os coeficientes de repetibilidade estimados corresponderiam exatamente à herdabilidade das características observadas (LOPES *et al.*, 2001).

De acordo com a metodologia proposta por Singh (1981), sobre a contribuição relativa dos caracteres para diversidade através da distância generalizada de Mahalanobis, observou-se que a característica peso de sementes, é a que menos contribui para as análises de diversidade (Tabela 1). Contudo, observou-se que após a eliminação dessa característica houve um rearranjo das importâncias dos caracteres, havendo assim uma alteração do agrupamento inicial, resultados esses que corroboram com aqueles encontrados por Nick *et al.* (2012) em estudos de análise de divergência genética entre subamostras de mandioca. Dessa forma, de acordo com o exposto por Oliveira *et al.* (2004), características como a de peso de sementes, que possuem baixa contribuição para estudos de diversidade devem ser mantidas em trabalhos futuros. Verificando-se assim, que com estudos futuros, caso as características apresentem ainda baixa contribuição para análises, recomenda-se a utilização apenas da característica espessura da semente.

TABELA 2 – ESTIMATIVA DOS COEFICIENTES DE REPETIBILIDADE (r), COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R²) E DO NÚMERO DE MEDIÇÕES CALCULADOS PARA 50 SEMENTES.

Característica	Valor obtido através de 50 medições		R ²	Nº de sementes necessárias para diferentes coeficientes de determinação				
				ANOVA		CPC	CPCV	AE
				R ²		η	η	η
Peso		r	R ² (%)	0,80	0	7,753 (8)	0,001 (1)	10,99 (11)
	ANOVA	0	0	0,85	0	10,67 (11)	0,001 (1)	15,58 (16)
	CPC	0,347	96,31	0,90	0	16,94 (17)	0,002 (1)	24,74 (25)
	CPCV	0,9998	99,99	0,95	0	35,76 (26)	0,005 (1)	52,23 (53)
	AE	0,2667	94,79	0,99	0	186,34 (187)	0,024 (1)	272,14 (273)
Comprimento				0,80	7,15 (8)	5,40 (6)	7,14 (8)	6,78 (7)
	ANOVA	0,3588	96,54	0,85	10,12 (11)	7,64 (8)	10,12 (11)	9,60 (10)
	CPC	0,4257	97,37	0,90	16,08 (17)	12,14 (13)	16,08 (17)	15,25 (16)
	CPCV	0,4636	97,73	0,95	33,95 (34)	25,63 (26)	33,95 (24)	32,2 (33)
	AE	0,3711	96,72	0,99	176,89 (177)	133,54 (134)	176,89 (177)	167,78 (168)
Largura				0,80	16,59 (17)	9,36 (10)	8,53 (9)	16,08 (17)
	ANOVA	0,1943	92,34	0,85	23,50 (24)	13,26 (14)	12,09 (13)	22,77 (23)
	CPC	0,2994	95,93	0,90	37,33 (38)	21,06 (22)	19,2 (20)	36,17 (37)
	CPCV	0,3191	95,90	0,95	78,80 (79)	44,46 (45)	40,53 (41)	76,36 (77)
	AE	0,1992	92,56	0,99	410,60 (411)	231,66 (232)	211,2 (212)	397,88 (398)
Espessura				0,80	1,11 (2)	1,03 (2)	0,99 (1)	1,05 (2)
	ANOVA	0,7825	99,44	0,85	1,57 (2)	1,46 (2)	1,40 (2)	1,49 (2)
	CPC	0,7951	99,49	0,90	2,50 (3)	2,32 (3)	2,23 (3)	2,37 (3)
	CPCV	0,8011	99,51	0,95	5,28 (6)	4,90 (5)	4,72 (5)	5 (5)
	AE	0,7917	99,48	0,99	27,52 (28)	25,51 (26)	24,58 (25)	26,05 (27)
Tamanho do hilo				0,80	4,99 (5)	3,98 (4)	3,91 (4)	4,75 (5)
	ANOVA	0,445	97,56	0,85	7,07 (8)	5,64 (6)	5,53 (6)	6,73 (7)
	CPC	0,501	98,04	0,90	11,22 (12)	8,96 (9)	8,78 (9)	10,69 (11)
	CPCV	0,5057	98,08	0,95	23,69 (24)	18,92 (19)	18,57 (19)	22,58 (23)
	AE	0,457	97,68	0,99	123,46 (124)	98,59 (99)	96,76 (97)	117,65 (118)

Onde: métodos de análise de variância (ANOVA), de componentes principais baseado na matriz de correlação (CPC) e de covariância (CPCV) e da análise estrutural baseado na matriz de correlação (AE)

FONTE: O Autor (2015)

A análise de agrupamento feita com base na distância de Mahalanobis, permitiu a formação de dois grupos, sendo que um dos grupos apresentou apenas dois clones (7 e 8), enquanto o outro grupo concentrou os demais, esse resultado corroborou com a análise de dispersão gráfica através das variáveis canônicas (Figura 1).

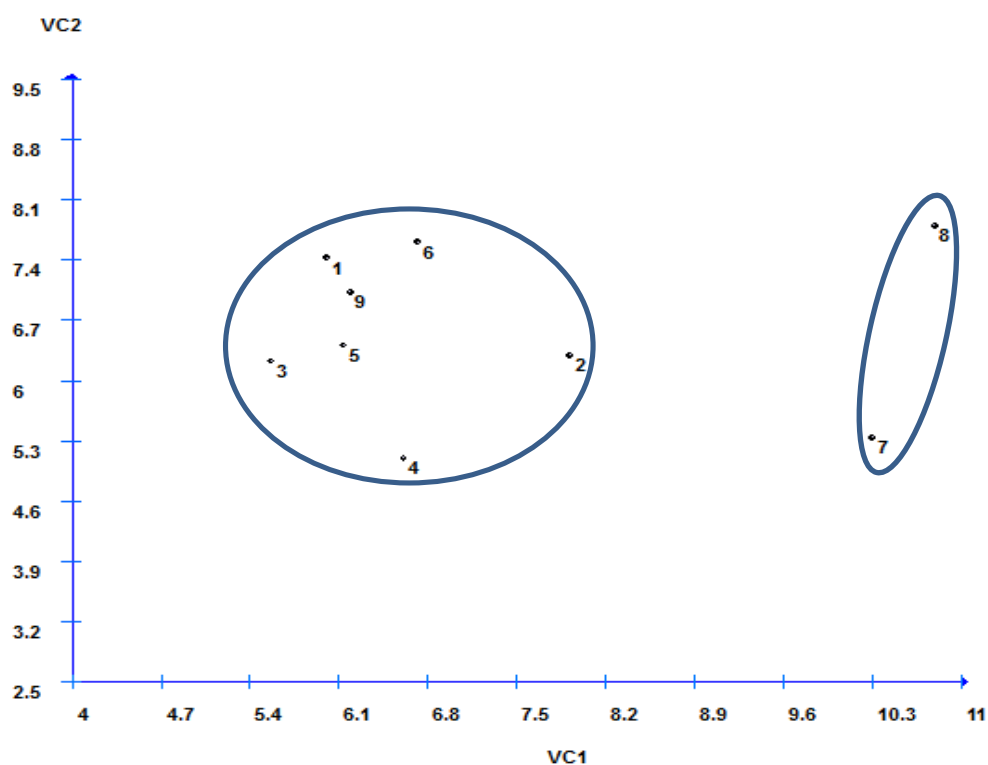


FIGURA 1 – DISPERSÃO GRÁFICA (2D) DOS ESCORES DE NOVE CLONES DE ACÁCIA-NEGRA, EM RELAÇÃO AS DUAS PRIMEIRAS VARIÁVEIS CANÔNICAS, ESTABELECIDAS PELA COMBINAÇÃO LINEAR DE CINCO CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE SEMENTES

FONTE: O autor (2015)

Adicionalmente, o dendrograma de dissimilaridade dos genótipos (Figura 2), construído com técnicas hierárquicas inferidas no método UPGMA com a distância de Mahalanobis, confirmou os resultados observados (Percentual de 30% de dissimilaridade), quanto pela análise de variáveis canônicas. As técnicas hierárquicas são as mais amplamente difundidas para utilização de agrupamentos (SIEGMUND *et al.*, 2004).

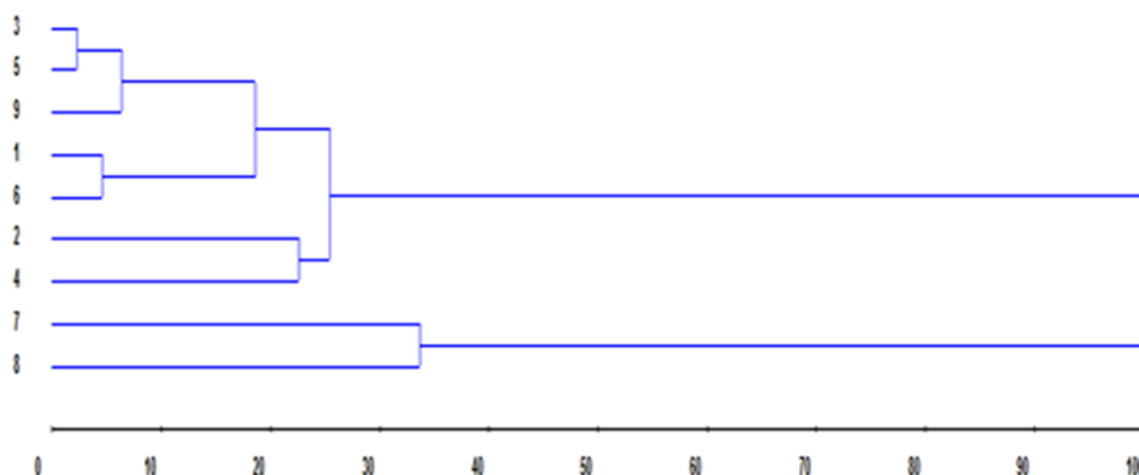


FIGURA 2 – DENDROGRAMA DE DISSIMILARIDADE DE CLONES POR MEIO DO MÉTODO UPGMA ENVOLVENDO AS CINCO CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS AVALIADAS DE SEMENTES DE ACÁCIA-NEGRA, ONDE OS NÚMEROS NA VERTICAL SÃO OS CLONES E NA HORIZONTAL É A PORCENTAGEM DE DISSIMILARIDADE.

FONTE: O autor (2015)

3.4 CONCLUSÕES

Diminuindo o número de medições de 50 sementes para 22 sementes obtemos um coeficiente de determinação de 90%, o que é suficiente para estudos com análises biométricas em sementes de acácia-negra.

Os métodos de agrupamento hierárquico UPGMA e dispersão gráfica das variáveis canônicas são concordantes, seguindo a mesma tendência de agrupamento entre os clones. Os genótipos 7 e 8 apresentaram-se divergentes dos demais através da análise de dissimilaridade e agrupamento.

REFERÊNCIAS

- ABEYWARDENA, V. An application of principal component analysis in genetics. **Journal of genetics**, v.61, p.27-51, 1972.
- CAVALCANTE, M. *et al.* Coeficiente de repetibilidade e parâmetros genéticos em capim-elefante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.4, p.569-575, 2012.
- CLIMATE-DATA. Dados climáticos para cidade mundiais. Disponível em: < <http://pt.climate-data.org/location/43792/> >. Acesso em: 22 jul. 2015.
- CORNACCHIA, G.; CRUZ, C.D.; PIRES, I.E. Estimativa do coeficiente de repetibilidade para características fenotípicas de procedências de *Pinus tecunumanii* (Schw.) Eguiluz & Perry e *Pinus caribaeae* var. *hondurensis* Barret & Golfari. **Revista Árvore**, v.19, n.3, p. 333-345, 1995.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes – Análise multivariada e simulação**. Viçosa: UFV, 2006a. 175 p.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes – Estatística Experimental e matrizes**. Viçosa: UFV, 2006b. 285 p.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4 ed. Viçosa: Ed. UFV, 2012. 514 p.
- CRUZ, C.D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.35, n.3, p.271-276, 2013.
- FERREIRA, R.P. *et al.* Determinação do coeficiente de repetibilidade e estabilização genotípica das características agronômicas avaliadas em genótipos de alfafa no ano de estabelecimento. **Revista Ceres**, v.57, n.5, p.642-647, 2010.
- LOPES, R. *et al.* Repetibilidade de características do fruto de aceroleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.3, p.507-513, 2001.
- LOURENCO, I.P. *et al.* Caracterização de frutos de genótipos de muricizeiros cultivados no litoral cearense. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.3, p.499-504, 2013.
- MANFIO, C.E. *et al.* Repetibilidade em características biométricas do fruto de macaúba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.1, p.70-76, 2011.
- MANSOUR, H.; NORDHEIM, E.V.; RULEDGE, J.J. Estimators of repeatability. **Theoretical Applied Genetics**, New York, v.60, p.151-156, 1981.
- MARTUSCELLO, J.A. *et al.* Repetibilidade de caracteres agronômicos em *Panicum maximum* Jacq. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n. 6, p. 1975-1981, 2007.

MATSUO, E. *et al.* Análise de repetibilidade em alguns descritores morfológicos para soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.2, n.2, p.189-196, 2012.

NICK, C. *et al.* Divergência genética entre subamostras de mandioca. **Bragantina**, Campinas, v.69, n.2, p.289-298, 2010.

OLIVEIRA, A.C.B. *et al.* Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum**, v.26, p. 211-217, 2004.

OLIVEIRA, H.A. **Acácia negra e tanino no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Tipografia Mercantil, 1960. 116p.

PADILHA, N.C.C.; OLIVEIRA, M.S.P. de; MOTA, M.G.C. Estimativa de repetibilidade em caracteres morfológicos e de produção de palmito em pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth). **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.4, p.435-442, 2003.

RAO, R.C. **Advanced statical methods in biometric research**. New York: J. Wiley, 1952. 330 p.

RESENDE, M.D.V. **Genética biométrica e estatística**: no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975p.

SIEGMUND, K.D.; LAIRD, P.W.; LAIRD-OFFRINGA, I.A. Acomparision of cluster analysis methods using DNA methylation data. **Bioinformatics**, v.20, n.12, p.1896-1904, 2004.

SILVA, R.G. *et al.* Repetibilidade e correlações fenotípicas de caracteres do fruto de bacuri no Estado do Maranhão. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.31, n.4, p.587-591, 2009.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.

VENCOVSKY, R. **Princípios de genética quantitativa**. Piracicaba: ESALQ, 1977. 97p.

4 CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE CLONES DE ACÁCIA-NEGRA (*Acacia mearnsii* De Wild.) VISANDO PROPOSIÇÃO DE DESCRITORES MÍNIMOS PARA PROTEÇÃO DE CULTIVARES

RESUMO

A caracterização morfológica de clones de acácia-negra é importante para a proposição de descritores mínimos visando a proteção de cultivares. O presente trabalho teve como objetivo estabelecer descritores morfológicos para *A. mearnsii* e validar metodologia empregada para condução de ensaios DHE para cultivares de acácia-negra. As avaliações de características botânicas foram realizadas em testes clonais localizados nos municípios de Cristal e Jaguarão no Rio Grande do Sul e também para características qualitativas de sementes. Foi determinado o coeficiente de repetibilidade para a característica diâmetro e realizado o método de agrupamento UPGMA através da distância Euclidiana. Ao todo foram avaliadas trinta e sete características em diferentes partes de cada planta. Embora algumas características apresentem homogeneidade para todos os clones verificou-se que há divergência genética entre clones. Existem características que demonstram alta distinção entre clones e são promissoras para compor os descritores mínimos. O coeficiente de repetibilidade para diâmetro apresentou alta magnitude e coeficiente de determinação acima de 95% mas essa característica não apresentou distinção entre clones. Doze características qualitativas avaliadas em indivíduos com um ano de idade não apresentaram distinção e não foram consideradas. Com as 20 demais características procedeu-se análise de similaridade de Jaccard pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA onde observou-se que as características morfológicas apresentam-se distintas. No total, 25 características foram selecionadas para proposição de descritores mínimos em ensaios DHE.

Palavras-chave: agrupamento; similaridade; distinção; descritores morfológicos

ABSTRACT

Morphological characterization of black wattle clones is important for the proposition of minimum primary descriptors for cultivar protection. This study had as its goal, to establish the primary morphological descriptors for *A. mearnsii* and validate the methodology used for the DHE tests for black wattle varieties. The botanical features and the seed qualitative characters evaluations were conducted in clonal testing sites in the towns of Cristal and Jaguarão, both in Rio Grande do Sul. The repeatability coefficient for the feature diameter was determined and we applied the UPGMA hierarchical clustering approach. Overall, thirty-seven features were studied on different parts of each plant. Even though some features showed similarity for all the studied clones, it was possible to detect genetic variation among the clones. There are features, which are highly distinguishable among clones, and these ones are good proponents to be a part of the minimum primary descriptors. The repeatability coefficient for the diameter showed broad magnitude and the determination coefficient was over 95%, however, this feature did not present distinctness from one clone to another. Twelve qualitative features evaluated in one-year-old subjects did not present distinctness and thus were not taken into account. The 20 remaining features underwent the Jaccard similarity index test using the UPGMA hierarchical clustering approach, which confirmed that these morphological traits are distinct. At the end, 25 features were selected to be presented as the minimum primary descriptors in DHE studies.

Key words: clustering, similarity, distinctness, morphological descriptors

4.1 INTRODUÇÃO

De acordo com o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), para uma cultivar ser registrada e protegida no Brasil, deve-se obedecer aos critérios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade – DHE, seguindo as normativas utilizadas internacionalmente (BAYLE, 1983). É realizada a avaliação de uma série de características morfológicas nos diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Essas características, denominadas descritores mínimos, são específicas para cada espécie e adotadas pelo SNPC (VIEIRA *et al.*, 2009).

Atualmente o SNPC orienta o uso de descritores para eucalipto (*Eucalyptus cloeziana*, *Corymbia citriodora* e *Corymbia torelliana*), pinus (*Pinus caribaea* var. *bahamensis* (Barr. et. Golf.); *Pinus caribaea* var. *caribaea* (Morelet.); *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (Sénécl); *Pinus elliottii* (Engelm.); *Pinus kesiya* (Royle ex Gordon.); *Pinus maximinoi* (H. E. Moore.); *Pinus oocarpa* (Sciade.); *Pinus patula* (Schiede et. Deppe.); *Pinus radiata*; *Pinus strobus chiapensis* (Linneu; Martinez.); *Pinus taeda* (Linneu.); *Pinus tecunumanii* (Eguiluz & Perry). *Pinus greggie* seus híbridos) e seringueira (*Hevea Aubl*). Embora existam instruções normativas para algumas espécies dos gêneros, apenas cultivares de eucalipto tem proteção assegurada pela legislação, existem 74 cultivares com proteção definitiva e 7 com proteção provisória (MAPA, 2015). Isso ocorre devido a dificuldades na validação dos descritores mínimos para as demais espécies.

Para assegurar a proteção de cultivar no Brasil, a cultivar candidata deve ser proveniente de melhoramento genético. A espécie acácia-negra vem sendo melhorada geneticamente desde a década de 1980. Existem esforços para otimização do protocolo de clonagem *in vitro* da espécie (SALLES, 2014) e também utilização de propagação vegetativa por métodos de mini estacas provenientes de mini-jardim clonal, mas é importante ressaltar que os usos dessas técnicas são recentes.

A maior parte dos plantios de acácia negra são provenientes de sementes e isso é um fator limitante para a proteção de cultivar, pois ocorre recombinação ocorre via polinização aberta, o que influencia no desenvolvimento da nova geração, uma vez que existe variabilidade genética entre os indivíduos. Devido à falta de uniformidade de plantios seminais de acácia-negra, técnicas de clonagem tem sido otimizadas e com isso clones comerciais estão sendo gerados. Existem esforços para

aumentar a área plantada com clones selecionados, visto que, esse tipo de plantio pode apresentar maior produtividade e qualidade de madeira e casca, maior homogeneidade dos produtos finais e melhor rendimento nos processos de colheita florestal.

Apesar da acácia-negra ser uma das espécies florestais mais plantadas no Brasil, a espécie não possui descritores mínimos estabelecidos pelo SNPC. A acácia-negra pode ser protegida pois segue os requisitos necessários para proteção. Com cultivares protegidas utilizadas pelos produtores, pode-se assegurar elevado padrão de qualidade genética do material utilizado e oferecer plantios uniformes e mais produtivos. No Brasil, a acácia-negra é plantada comercialmente no Rio Grande do Sul desde 1930, alcançando atualmente cerca de 50 municípios. Segundo ABRAF (2013) a área plantada do gênero *Acacia*, de 2010 para 2012 obteve um aumento de 16,23% totalizando 148.311 mil hectares. Paralelamente, 2004 até 2014, houve um decréscimo (18,6%) das áreas de plantio de acácia-negra. Isso condicionará um colapso no mercado da espécie, pois a demanda de área existente hoje é de 20 mil hectares por ano e a área plantada é de apenas 7,2 hectares (SETA, 2015). A utilização de cultivares mais produtivas pelos produtores, assegurará o bom desempenho da espécie em solos gaúchos, visto que a uniformidade é de extrema importância neste panorama. Outra implicação relativa a espécie, é a falta de descritores mínimos para execução dos testes DHE.

O objetivo deste estudo foi estabelecer descritores morfológicos para *A. mearnsii* e autenticar a metodologia empregada para condução de ensaios DHE em acácia-negra.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 14 clones em dois testes clonais em delineamento em blocos ao acaso localizados no Estado do Rio Grande do Sul mais um tratamento testemunha (Tratamento 10). Um dos testes está localizado no município de Cristal, com classificação climática Koppen Cfa, com predomínio de neossolos regolíticos distróficos (MOCHIUTTI, 2007) e o outro está localizado no município de Jaguarão, com classificação climática Koppen Cfa e formado por litossolos e brunizem com

afloramentos rochosos e presença de mais de 14% da área total da localidade (CUNHA *et al.*, 1996).

De cada clone foram avaliados nove indivíduos, sendo que no teste clonal do município de Jaguarão, analisou-se três indivíduos de cada solo: pedregoso, de transição e argiloso. As avaliações foram realizadas no período de outubro a dezembro de 2014. A escolha dos clones ocorreu por uma seleção prévia de características contrastantes entre os clones do teste clonal. As características avaliadas estão apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS AVALIADAS EM TESTES CLONAIIS DE ACÁCIA-NEGRA PARA PROPOSTA DE DESCRITORES MÍNIMOS.

		Característica	Forma de avaliação
1		Intensidade do brilho das sementes	VI
2		Intensidade da cor preta das sementes	VI
3		Aderência do hilo	VI
4		Peso das sementes	MG
5	Semente	Comprimento das sementes	MG
6		Largura das sementes	MG
7		Espessura das sementes	MG
8		Tamanho do hilo	MG
9		Ciclo até a primeira floração com 15 meses	VG
10		Pedúnculo	VG
11	Terço final do indivíduo	Intensidade da cor verde da copa	VG
12		Densidade da copa	VG
13		Formato do ápice da copa	VG
14		Pecíolulo	VG
15		Forma das folhas	VG
16		Cerosidade das folhas	VG
17		Pecíolo na parte intermediária das folhas	VG
18		Forma dos folíolos intermediários	VG
19		Formato do folíolo central	VG
20		Cerosidade das folhas intermediárias	VG
21		Ângulo do lançamento dos galhos	VG
22	Terço médio do indivíduo	Intensidade da cor verde das folhas no DAP	VG

23		Brilho das folhas	VG
24		Textura da das folhas	VG
25		Pubescência adaxial	VG
26		Pubescência abaxial	VG
27		Terço final das folhas no DAP	VG
28		Atitude dos folíolos	VG
29		Diâmetro a altura do peito	VG
30		Formato do ápice da copa	VG
31		Curvatura do tronco	VG
32		Coloração dos galhos	VG
33		Formato da árvore	VG
34		Lenticelas	VG
35		Inserção do ramo primário	VG
36	Terço basal do indivíduo	Cerosidade na superfície da casca	VG
37		Cor predominante do ritidoma	VG
38		Cor da casca acima do ritidoma	VG

Onde: a mensuração simples de um grupo de plantas ou partes de plantas (mg); a avaliação visual a partir de uma observação simples de um grupo de plantas ou partes de plantas (vi); a avaliação visual a partir da observação de uma planta individual ou partes de plantas (vg).

FONTE: O autor (2015)

Também com base nas matrizes de presença e ausência, foram estimadas medidas de similaridade genética através do índice de Jaccard pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA. Através do agrupamento com o método UPGMA, obtemos um resumo simplificado da matriz de similaridade dos descritores, esse método tem sido muito utilizado pois tem a vantagem de considerar a média aritmética das medidas de similaridade entre os clones (CRUZ *et al.*, 2012). Esse método também interessante visto que tende a gerar valores mais altos do coeficiente de correlação cofenética (SOKAL e ROHF, 1962). O coeficiente de correlação cofenética é a correlação linear de Pearson entre os elementos da matriz de dissimilaridade e os elementos da matriz cofenética (CARGNELUTTI FILHO *et al.*, 2010).

As características de sementes foram trabalhadas separadamente visto que utilizaram-se nove clones com idade de dois anos. Através da matriz de presença e ausência para os descritores morfológicos das sementes analisadas, realizou-se o agrupamento pelo método hierárquico UPGMA.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para os descritores de florescimento observou-se heterogeneidade dentre e entre os clones trabalhados. Por apresentar variação da característica dentro dos indivíduos analisados no mesmo conjunto clonal, essa característica foi descartada das análises. Já para a característica de pedúnculo das flores não foi observada variação uma vez que essa característica está presente em todos os indivíduos que apresentaram flores, mas não entrou para as análises devido estar correlacionada com o florescimento. É importante ressaltar que características como número de inflorescência, viabilidade de pólen e coloração de pólen podem ser vantajosas para verificar possíveis variações entre os clones trabalhados. AGUIAR *et al.* (2004), observaram que as características de flores são pouco informativas na validação de descritores em café, ainda, os autores observaram que mesmo com pouca variação no número de inflorescências por axila e de flores por inflorescência, esses dados podem ser utilizados com êxito.

Embora existam três tipos de solos no teste clonal instalado no município de Jaguarão-RS não houve influência na expressão das características morfológicas e essas se mostraram homogêneas para a área total. Não se observou variação entre os testes clonais dos municípios de Jaguarão-RS e Cristal-RS.

A análise do caractere diâmetro a altura do peito (DAP) demonstrou que nove medições individuais de cada clone são eficientes para avaliar essa característica. Através dos resultados da análise com o coeficiente de repetibilidade pelo método de componentes principais de correlação, foi observado um alto valor do coeficiente ($r = 0,7076$) representando um coeficiente de determinação acima de 95%. Desejando um coeficiente menor que o obtido (95%) seriam necessárias apenas 4 medições para essa característica e aumentar o número de medições a campo é dispendioso visto que para coeficiente de 99% são necessárias 41 medições. Pela análise da relação entre repetibilidade e número de medições, pode-se afirmar que quando a repetibilidade é alta, como demonstrado para a característica de DAP, o aumento do número de medições resultará em pouco acréscimo na precisão.

A análise de dissimilaridade genética entre os clones foi realizada através da distância Euclidiana pelo método de agrupamento UPGMA com a formação do dendrograma apresentado na Figura 1. O coeficiente de correlação cofenética foi de

0,958 com um estresse de 20%, o que representa um bom ajuste da matriz de dissimilaridade demonstrando assim que a característica é estável. Para essa característica observou-se não haver distinção entre clones e por isso não se adequa para utilização como um descritor morfológico. Em estudos de *Psidium guajava* L. (GOMES FILHO *et al.*, 2010) analisando características qualitativas e de DNA com 6 cultivares e 19 acessos, a característica diâmetro do caule demonstrou que a maioria dos acessos apresentava valores semelhantes aos das cultivares

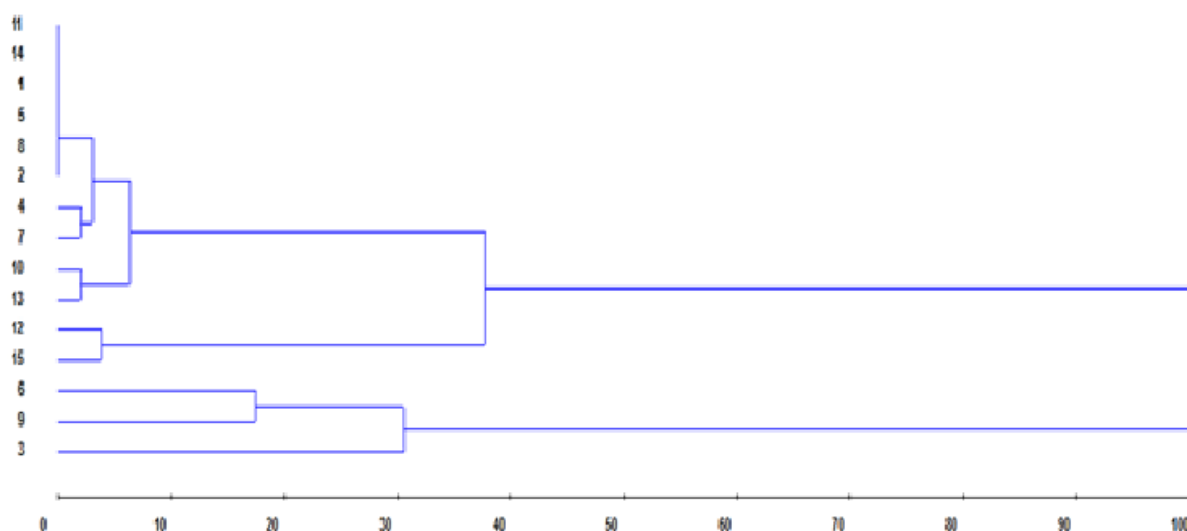


FIGURA 1 – AGRUPAMENTO POR UPGMA REALIZADO COM AS DISTÂNCIAS EUCLIDIANAS PARA DADOS QUANTITATIVOS DE DIÂMETRO COM COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO COFENÉTICO DE 0,958, ONDE NA VERTICAL ENCONTRAM-SE OS CLONES E NA HORIZONTAL A PORCENTAGEM DE DISSIMILARIDADE.

FONTE: O autor (2015)

As características quantitativas e qualitativas utilizadas para avaliar sementes mostram-se satisfatórias para validar os descritores morfológicos. As diferenças entre os clones foram evidentes e as características foram homogêneas dentro das amostras avaliadas para cada tipo conjunto de indivíduos do mesmo clone. Com amostras de 22 sementes podemos avaliar oito características importantes para compor a lista de descritores mínimos.

As características de espessura, tamanho do hilo, comprimento e largura são muito eficientes para distinção entre cultivares. A característica peso demonstrou-se pouco eficiente para a distinção mas salienta-se que deve ser mantida e avaliada em mais ciclos. Com base nas características qualitativas (intensidade do brilho, intensidade da cor preta e aderência do hilo) foi originada uma matriz binária de presença e ausência da característica para análise de similaridade pelo índice de

Jaccard e com base nessa matriz construiu-se um dendrograma com o método UPGMA (Figura 2). Com essas informações qualitativas de sementes, observou-se uma dissimilaridade de pelo menos 55% entre alguns clones, sendo possível distingui-los com base em três características qualitativas, pois foi evidenciada a distinção entre os clones trabalhados. O clone 7 demonstrou uma dissimilaridade de mais de 90% dos demais, e os clones 5,8 e 2 mostram-se com taxas acima de 55% de dissimilaridade. Em contrapartida, em estudos com goiabeira-serrana (DEGENHART, 2001; SANTOS, 2005), informações qualitativas de sementes, como brilho, tem sido tomadas com cuidado visto que as esse tipo de análise é considerada subjetiva e orienta-se a analisar essas informações com cautela por razões de forma de coleta e armazenamento das amostras.

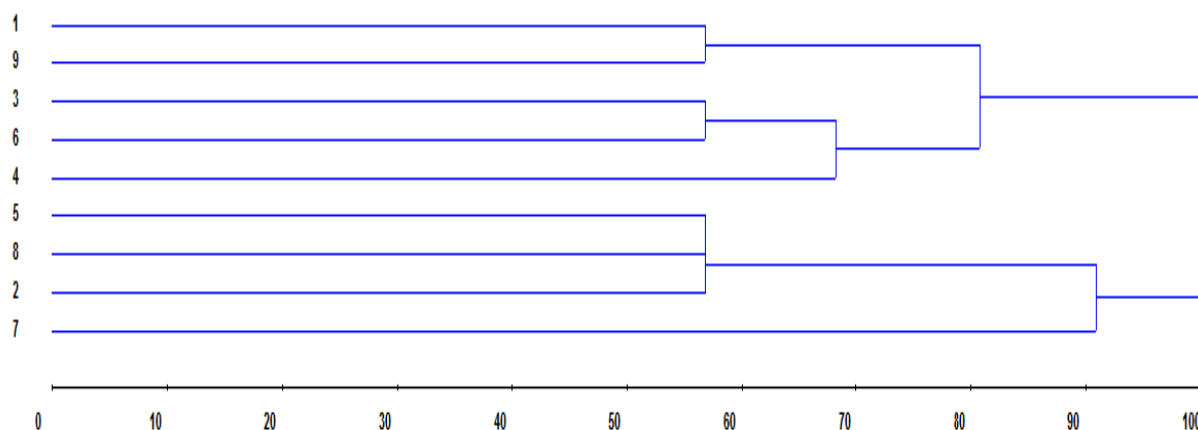


FIGURA 2 – DENDROGRAMA DE AGRUPAMENTO UPGMA DE TRÊS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE SEMENTES DE ACÁCIA-NEGRA COM ÍNDICE DE SIMILARIDADE DE JACCARD PARA NOVE CLONES, ONDE NA VERTICAL ENCONTRAM-SE OS CLONES E NA HORIZONTAL A PORCENTAGEM DE SIMILARIDADE

FONTE: O autor (2015)

As características analisadas no ramo principal e galho na altura do peito que evidenciaram a distinção entre clones foram: cor predominante do ritidoma; cor predominante da casca acima do ritidoma, cerosidade da casca; curvatura do tronco; forma da árvore; densidade da folhagem; direção dos galhos no DAP; porcentagem de lenticelas; cor dos galhos no DAP e cor da casca do ramo principal no DAP. No total das características de folhas e ramo principal, observou-se que das 30 características, 16 são capazes de distinguir os clones, as demais características apresentaram-se homogêneas. Por isso, essas características morfológicas devem compor prioritariamente a lista de descritores mínimos. MIRANDA (2013), observou,

que a características cor demonstrou-se instável para caracterização de clones de teca e que dependendo do estágio de desenvolvimento e das condições de umidade no local de estudo, a coloração variou tanto entre tons de verde quanto em face abaxial e adaxial.

Os autores, Vasconcelos *et al.* (2007), relatam que este agrupamento pode ser influenciado pela distância dos genótipos já agrupados. Isso ocorre, devido ao fato do método se utilizar de um critério global de agrupamento, ou seja, baseia-se na maior distância entre as menores encontradas na matriz de dissimilaridade durante todo o processo (SILVA, 2012).

De acordo com as matrizes de presença e ausência das características morfológicas foi possível construir um dendrograma com um coeficiente de correlação cofenética de 0,91 que apresentou uma distorção de 0,85 e estresse de 9,24%. Isso demonstra que o coeficiente de correlação cofenética pode ser utilizado para avaliar a consistência do padrão de agrupamento, sendo que valores próximos à unidade indicam melhor representação (CRUZ *et al.*, 2012). Com base nos valores obtidos, um dendrograma com alta magnitude e consistência para as características analisadas, com isso aumenta-se a confiabilidade do agrupamento.

Os agrupamentos realizados pelo índice de Jaccard podem ser observados na Figura 3. Observa-se onde a maior diferença encontrada, refere-se ao tratamento 10 que se demonstrou distinto dos demais clones na taxa máxima de 100%. Isso se deve ao fato que esse tratamento ser o testemunha das análises e ser proveniente de semente e não clone, com isso foi possível verificar que os clones diferem-se do tratamento seminal. Para os demais clones, foi observado que os clones 15 e 7 mostram as menores taxas de dissimilaridade, acima de 55%. Os demais apresentaram-se com taxas superiores a 60%, com isso, o conjunto de descritores morfológicos que atenderam os aspectos legais do teste de distinção, homogeneidade e estabilidade exigido para proteção de cultivar.

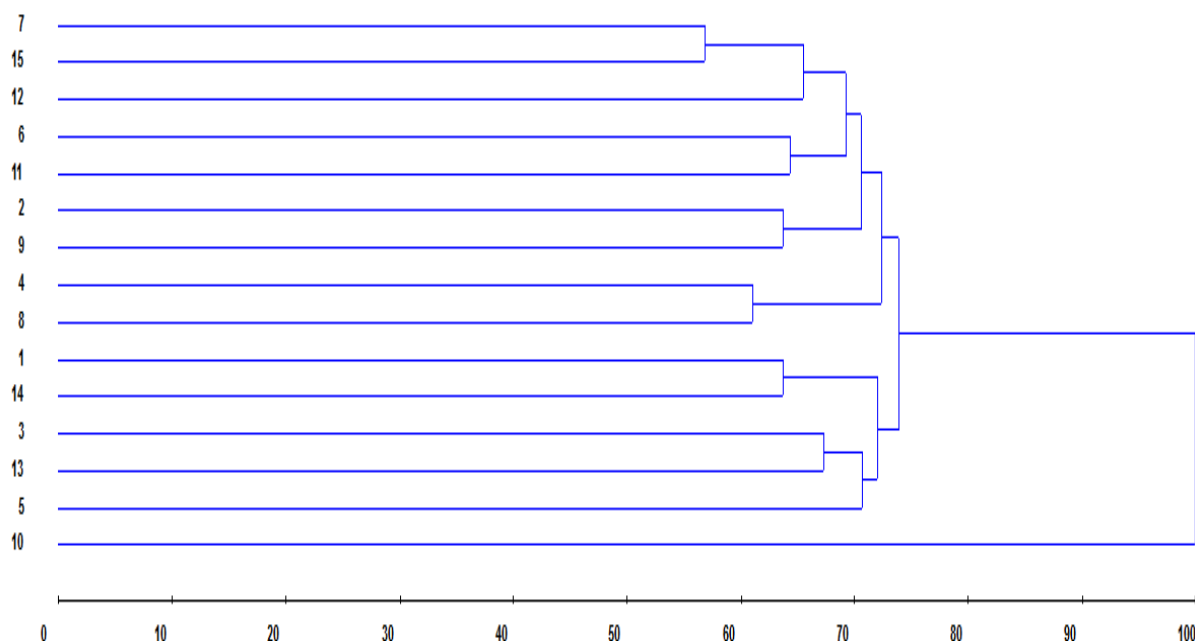


FIGURA 3 – DENDROGRAMA OBTIDO POR UPGMA COM BASE NA MATRIZ DE SIMILARIDADE DE JACCARD PARA 16 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS EM TESTES CLONAIIS DE ACÁCIA-NEGRA COM COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO COFENÉTICA DE 0,91.
 FONTE: O autor (2015)

4.4 CONCLUSÕES

Os descritores morfológicos utilizados para comporem a lista de descritores mínimos de acácia-negra mostram-se eficazes. Dos 38 descritores qualitativos e quantitativos, 25 mostram-se capazes de distinguir diferentes clones da espécie (Apêndices) e são recomendados como descritores mínimos: cerosidade do folíolo; cerosidade do folíolo intermediário; intensidade da cor verde; brilho das folhas; atitude dos peciólulo; forma do terço final foliar; forma do ápice da copa; cor predominante do ritidoma; cor predominante da casca acima do ritidoma, cerosidade da casca; curvatura do tronco; forma da árvore; densidade da folhagem; direção dos galhos no DAP; porcentagem de lenticelas; cor dos galhos no DAP; cor da casca do ramo principal no DAP; peso de sementes; comprimento de sementes; largura de sementes; espessura das sementes; tamanho do hilo; intensidade da cor preta das sementes; intensidade do brilho das sementes e aderência do hilo das sementes. .

As características de florescimento e presença de pedúnculo nas inflorescências foram descartadas das análises e da lista de descritores mínimos pois mostraram-se heterogêneas dentro do conjunto de indivíduos de um mesmo clone. Os demais descritores: peciólulo; forma dos folíolos; forma dos folíolos centrais; formato dos

folíolos centrais comparados aos demais; textura das folhas; pubescência abaxial; pubescência adaxial; inserção dos ramos primários; diâmetro a altura do peito (DAP) mostram-se homogêneos dentre todos os clones e com isso não foram eficazes para a distinção entre clones do teste DHE. Com isso, os descritores utilizados para a acácia-negra atenderam aos requisitos legais da proteção de cultivares e atenderam aos preceitos dos testes de distinção, homogeneidade e estabilidade autenticando a metodologia empregada.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS (ABRAF). **Anuário estatístico da ABRAF 2013**: ano base 2012. Brasília: ABRAF, 2013. 149 p.
- AGUIAR, A.T.E. *et al.* Caracterização de cultivares de *Coffea arabica* mediante utilização de descritores mínimos. **Bragantia**, Campinas, v.63, n.2, p.179-192, 2004.
- BAYLE, D. C. Isozymic variation and plant breeders rights. In: TAKSLEY, S. D; ORLON, T.J. (Org.). **Isozymes in Plant Genetics and Breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1983. p. 425-440.
- CARGNELUTTI FILHO, A. C.; RIBEIRO, N. D.; BURIN, C. Consistência do padrão de agrupamento de cultivares de feijão conforme medidas de dissimilaridade e métodos de agrupamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.3, p.236-243, 2010.
- COSTA, J. C. da. **Utilização de marcadores ISSR na caracterização de cultivares**. Recife: UFRPE, 2010. Disponível em: < <http://lira.pro.br/wordpress/wp-content/uploads/downloads/2010/11/revisao-jose-carlos.pdf> >. Acesso em: 16 jun. 2015.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes – Análise multivariada e simulação**. Viçosa: UFV, 2006a. 175 p.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes – Estatística Experimental e matrizes**. Viçosa: UFV, 2006b. 285 p.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4 ed. Viçosa: Ed. UFV, 2012.
- CRUZ, C.D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.35, n.3, p.271-276, 2013.
- CUNHA, N.G.; SILVEIRA, R.J.C.; SEVERO, C.R.S. **Estudo dos solos do município de Jaguarão**. Pelotas: EMBRAPA/CPACT; Ed. UFPel, 1996. 75 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/41400/1/Jaguarao.pdf>>. Acesso em: 07 jun. 2015.
- DEGENHARDT, J. **Variação Fenotípica de Características de plantas e de frutos de Goiabeira-Serrana (*Acca sellowiana*)**. 2001. 71 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.
- GOMES FILHO, A. *et al.* Marcadores moleculares RAPD e descritores morfológicos na avaliação da diversidade genética das goiabeiras (*Psidium guajava* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.33, n.4, p.627-633, 2010.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Cultivares protegidas.** Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares/cultivares-protegidas>>. Acesso em: 23 jul. 2015.

MIRANDA, M.C. **Caracterização morfológica e avaliação de desenvolvimento de clones de Teca (*Tectona grandis* L.f.).** 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Faculdade de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2013.

MOCHIUTTI, S. **Produtividade e sustentabilidade de plantações de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) no Rio Grande do Sul.** 2007. 286 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

SALLES, E.A.P.B. **Micropropagação de *Acacia mearnsii* De Wild.** 2014. 116 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

SANTOS, K.L. **Bases genéticas de características de importância agrônoma em Goiabeira-Serrana (*Acca sellowiana*).** 2005. 125 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Centro de Ciência Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SOCIEDADE EXTRATIVA TANINO DE ACÁCIA LTDA (SETA). **Acácia-negra: histórico, custos e perspectivas de mercado.** V Feira da Florestal, Nova Prata, RS, 2015. Disponível em: <<http://www.futurafeiras.com.br/pdf/acacia-negra-seta.pdf>>. Acesso em: 29 jun. 2015.

SILVA, A.R. **Métodos de agrupamento: avaliação e aplicação ao estudo de divergência genética em acessos de alho.** 2012. 67p. Dissertação (Mestrado em Estatística Aplicada e Biometria) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012

SOKAL, R.R.; ROHF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v.11, p. 30-44, 1962.

VASCONCELOS, E.S.; CRUZ, C.D.; BHERING, L.L.; RESENDE JÚNIOR, M.F.R. Método alternativo para análise de agrupamento. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.42, n.10, p. 1421-1428, 2007.

VIEIRA, E. S. N.; VON PINHO, E. V. de R.; CARVALHO, M. das G. G.; SILVA, P. A. da. Caracterização de cultivares de soja por descritores morfológicos e marcadores bioquímicos de proteínas e isoenzimas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 086-094, jan. 2009.

APÊNDICES

Tabela 1. Quadro resumo com características que apresentaram distinção entre clones de acácia-negra, em testes clonais no Estado do Rio Grande do Sul.

CLONE	CEROSIDADE DO FOLÍOLO				CEROSIDADE FOLÍOLO INTERMEDIÁRIO				INTENSIDADE DA COR VERDE		
	aus	frac	med	fort	aus	frac	med	forte	claro	médio	escuro
1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
3	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
4	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
5	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
5	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
7	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
7	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
9	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
10	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
11	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
12	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
13	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
14	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
15	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1

Tabela 2. Continuação

CLONE	BRILHO FOLHAS			ATITUDE DO PECÍOLO				FORMA APÍCE COPA			COR PREDOMINANTE RITIDOMA		
	ausente	médio	forte	semi-ereto	horiz.	semi-incli.	ereto	angular	obtusos	arred.	cinza	marrom	verde
1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0
3	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
4	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
5	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
5	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
7	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
7	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
9	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
10	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
11	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
12	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
13	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
14	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
15	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0

Tabela 2. Continuação

CLONE	COR PREDOMINANTE CASCA			CEROSIDADE CASCA		CURVATURA TRONCO			FORMA DA ÁRVORE			
	cinza	marrom	verde	ausente	presente	ret lig curv	mod curv	fort curv	achat.	circ.	oval	trian.
1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
2	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
3	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
4	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
5	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1
5	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
7	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1
7	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0
9	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0
10	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
11	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1
12	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
13	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0
14	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
15	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1

Tabela 2. Continuação

CLONE	DENSIDADE COPA			DIREÇÃO GALHOS		LENTICELAS			COR GALHOS Dap		
	esparsa	média	densa	angular	reto	pouco	média	muito	marrom	roxo	verde
1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
2	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1
3	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
4	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
5	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0
5	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0
7	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0
7	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
9	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
10	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
11	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
12	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
13	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0
14	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1
15	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0

Tabela 2. Continuação

CLONE	COR CASCA DO TRONCO PRINCIPAL			FORMA 1/3 FINAL FOLHA		
	NO Dap			conc	conve	normal
	marrom	roxo	verde			
1	0	1	0	0	0	1
2	0	0	1	1	0	0
3	0	0	1	0	0	1
4	0	0	1	1	0	0
5	0	0	1	0	1	0
5	0	0	1	1	0	0
7	0	0	1	1	0	0
7	0	0	1	1	0	0
9	0	0	1	1	0	0
10	1	0	0	0	0	1
11	0	0	1	1	0	0
12	0	1	0	1	0	0
13	0	0	1	0	0	1
14	0	1	0	0	0	1
15	0	0	1	1	0	0

Tabela 2. Quadro resumo das características morfológicas de sementes provenientes de pomar clonal localizado no município de Piratini, Estado do Rio Grande do Sul.

Clone	Intensidade do brilho			Intensidade da cor preta			Aderência do hilo	
	fosco/fraco	médio	forte	fraca	médio	forte	sim	não
1	0	1	0	0	0	1	1	0
2	1	0	0	0	1	0	1	0
3	0	0	1	0	0	1	1	0
4	0	0	1	0	0	1	0	1
5	1	0	0	0	1	0	1	0
6	0	0	1	0	0	1	1	0
7	0	1	0	0	1	0	0	1
8	1	0	0	0	1	0	1	0
9	0	1	0	0	0	1	1	0

PROPOSTA DE DESCRITORES MÍNIMOS DE ACÁCIA-NEGRA (*Acacia mearnsii*
De Wild.)

Denominação proposta para a cultivar:

I – DESCRITORES MORFOLÓGICOS

Característica	Descrição da característica	Código para cada descrição	Código que melhor descreve a cultivar
1. Indivíduo com 15 meses: Cerosidade do folíolo	Ausente	3	()
	Fraco	5	
	Médio	7	
2. Indivíduos com 15 meses: Cerosidade do folíolo intermediário	Ausente	3	()
	Fraco	5	
	Médio	7	
3. Indivíduos com 15 meses: Intensidade da cor verde	Fraco	3	()
	Médio	5	
	Forte	7	
4. Indivíduo com 15 meses: Brilho das folhas	Ausente	3	()
	Médio	5	
	Forte	7	
5. Indivíduo com 15 meses: Atitude do peciólulo	Ereto	3	()
	Horizontal	5	
	Semi-ereto	7	
	Semi-inclinado	9	
6. Indivíduo com 15 meses: Forma do ápice da copa	Angular	3	()
	Arredondado	5	
	Obtuso	7	
7. Indivíduo com 15 meses: Cor predominante do ritidoma	Cinza	3	()
	Marrom	5	
	Verde	7	
8. Indivíduo com 15 meses: Cor predominante acima do ritidoma	Cinza	3	()
	Marrom	5	
	Verde	7	

9. Indivíduo com 15 meses:			
Cerosidade da casca no Dap	Ausente	3	()
	Presente	5	
10. Indivíduo com 15 meses:	Reto ou		
Curvatura do tronco	ligeiramente		
	curvado	3	
	Moderadamente		
	curvado	5	()
	Fortemente		
	curvado	7	
11. Indivíduo com 15 meses:			
Forma da árvore	Achatada	3	
	Cilindrica	5	
	Oval	7	()
	Triangular	9	
12. Indivíduo com 15 meses:			
Densidade da folhagem da			
copa	Esparsa	3	
	Média	5	()
	Densa	7	
13. Indivíduo com 15 meses:			
Direção dos galhos no Dap	Angular	3	()
	Reto	5	
14. Indivíduos com 15 meses:			
Presença de lenticelas abaixo			
do Dap	Pouco	3	
	Médio	5	()
	Muito	7	
15. Indivíduos com 15 meses:			
Cor dos galhos no Dap	Marrom	3	
	Roxo	5	()
	Verde	7	
16. Indivíduos com 15 meses:			
Cor da casca do tronco no Dap	Marrom	3	
	Roxo	5	()
	Verde	7	
17. Indivíduos com 15 meses:			
Forma do terço final das folhas			
nos galhos no Dap	Côncavo	3	
	Convexo	5	()
	Normal	7	
18. Indivíduos com 24 meses:			
Intensidade do brilho das			
sementes	Fosco/fraco	3	
	Médio	5	()
	Forte	7	

19. Indivíduos com 24 meses:			
Intensidade da cor preta das sementes	Fraca	3	
	Média	5	()
	Forte	7	
20. Indivíduos com 24 meses:			
Aderência do hilo em sementes	Ausente	3	()
	Presente	5	
21. Indivíduos com 24 meses:			
Peso das sementes	Leve	3	
	Média	5	()
	Pesada	7	
22. Indivíduos com 24 meses:			
Comprimento das sementes	Curta	3	
	Média	5	()
	Longa	7	
23. Indivíduos com 24 meses:			
Largura das sementes	Estreita	3	
	Média	5	()
	Larga	7	
24. Indivíduos com 24 meses:			
Espessura das sementes	Fina	3	
	Média	5	()
	Larga	7	
25. Indivíduos com 24 meses:			
Tamanho do hilo das sementes	Pequeno	3	
	Médio	5	()
	Grande	7	